

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحي-جيجل

Université Med -Seddik Benyahia -Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie Appliquée et  
des Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم التغذية

## Mémoire de fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

**Option : Microorganismes et Pathogénicité**

### Thème

**Effet de quelques substances bioactives sur la cinétique de  
croissance de *Staphylococcus aureus*.**

#### Membre de jury

**Président :** M<sup>me</sup> BENHAMADA Nabila

**Examineur :** Dr AIT-MEDDOUR Amel

**Encadreur :** M<sup>me</sup> BEKKA-HADJI Fahima

#### Présenté par :

M<sup>elle</sup> CHAIB Rekia

M<sup>elle</sup> BAYOU Fatima

Année universitaire : 2016-2017

N°d'ordre :.....

## *Remerciements*

*En premier lieu, nous tenons à remercier notre DIEU, notre créateur le tout puissant, pour nous avoir donnée la force pour accomplir ce travail.*

*Nous tenons à notifier un remerciement spécial à M<sup>me</sup> BEKKA F. pour son aide et ses conseils durant toute la période de la réalisation de notre projet.*

*Nous exprimons nos remerciements à :*

- ✓ L'ensemble de membre de jury M<sup>me</sup> Benhamada N. et M<sup>me</sup> Ait-Meddour A. pour avoir accepté de juger notre travail*
- ✓ Toute l'équipe de laboratoire de MICROBIOLOGIE,*
- ✓ A M<sup>elle</sup> SALAM S. et M<sup>me</sup> BOURZAMA G.*

*Nous remercions s'adressent également à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour réaliser ce travail.*

*Merci*

## *Dédicace*

*Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.*

*Que je dédie :*

*A mon très cher papa raison de mon existence, pour ses sacrifices, son soutien, sa générosité et sa tendresse. Vous avez toujours été là près de moi pour me soutenir, m'encourager et me guider avec vos précieux conseils. QU'ALLAH vous garde et vous procure une bonne santé et une longue vie.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. je vous dédie aujourd'hui ma réussite pour vous maman, Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.*

*A mes frères; Nabil et son épouse Saida, Nori et Salwa, Aissam et Khalida, Mourad et mon cher frère Mohammed*

*A mes sœurs; Zabida et son marie Boudjamaa, Naima, Nawel et Houcine, Razika et Azouze, Sara et Mohammed et Fahima*

*A tous les enfants; Chouaib, Abd Elbassate, Abd Elmouhaimine, Lina, Youssef, Narimane, Abd Elrahmane, Mohemmed Amine, Abd Elmounime et Zahra*

*Pour tous leurs encouragements, merci*

*A toute la Famille Chaïb et Hallis*

*A toute mes chères amies et mes camarades de promotion*

*Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire*

*Rekia*

## *Didicace*

*En premier lieu, je tiens à remercier DIEU, notre créateur  
le tout puissant, pour nous avoir donné la force pour  
accomplir ce travail .*

*A mes chères parents : Ahmed et Fahima qui m'ont toujours  
aidé et soutenu,  
merci pour vous*

*à mes sœurs : Nawal, Asma, Yousra pour tous vos  
encouragements, merci*

*A toute la famille bayou, boumazboire et surtout mes  
grande parents*

*A toutes mes chères amies :Iman, Rekia ,Rafika, zinab,  
Houda, Yasmîna, Safwa, widad , Karîma , Linda, Massîka ,  
Aïda, Somia*

*A mes camarades de promorion*

*A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce  
mémoire*

*Fatîma*

## SOMMAIRE

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Glossaire	
Introduction .....	1

### CHAPITRE I : Généralité sur *Staphylococcus aureus* et SARM

1. Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	3
2. Taxonomie et Classification .....	3
3. Habitat .....	3
4. Caractères bactériologiques et culturaux .....	4
5. Facteurs de virulences .....	4
Paroi .....	5
Facteurs de virulence excrétés .....	5
6. Pouvoir pathogène .....	5
6.1. Septicémies à <i>S. aureus</i> .....	6
6.2. Toxi-infections alimentaire .....	6
7. Mécanisme de résistance des <i>S. aureus</i> .....	6
7.1. Modification de la cible .....	6
7.2. Résistance par production enzymatique .....	7
8. Mode de transmission .....	7
9. Epidémiologie .....	8
10. Facteur de risque du SARM .....	8
11. Cinétique de la croissance bactérienne .....	9

### CHAPITRE II : Lichens et activité anti-staphylococcique

1. Généralité sur les lichens .....	11
2. <i>Evernia prunastri</i> .....	11
2.1. Description de l'espèce .....	11
2.2. Classification .....	12
3. Métabolites lichéniques .....	12
3.1. Métabolites primaires .....	12
3.2. Métabolites secondaires .....	13
4. Substance bioactive lichéniques douée d'activité anti-staphylococcique .....	13
5. Distribution des composés d' <i>Evernia prunastri</i> .....	14

### CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel utilisé .....	16
1.1. Matériel végétal .....	16
1.2. Matériel biologique .....	16
1.3. Matériel du laboratoire .....	16
2. Méthodes .....	17
2.1. Activité antibactérienne .....	17

2.1.1. Aromatogramme sur milieu solide .....	17
2.1.2. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des extraits de chaque fraction.....	18
2.2. Cinétique de croissance en présence des extraits des fractions les plus actives.....	19
2.3. Etude statistique.....	19

## **CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION**

1. Résultats de l'activité antibactérienne.....	20
1.1. Aromatogramme sur milieu solide .....	20
Fractions chloroformique.....	20
Fractions d'acétate d'éthyle .....	23
Etude statistique.....	27
1.2. Aromatogramme en milieu liquide.....	33
Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche ATCC 43300 .....	33
Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche S 225.....	34
Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche S 220.....	35
Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche S 56.....	36
2. Résultat de la cinétique de croissance en présence des extraits phénoliques des fractions les plus actives .....	37
Effet de fraction J sur la cinétique de croissance de la souche ATCC 43300.....	37
Effet des fractions O, Q et H sur la cinétique de croissance de la souche S 225 .....	38
Effet de fraction J sur la cinétique de croissance de La souche S 220 .....	38
Effet des fractions I et F sur la cinétique de croissance de La souche S 56.....	39
<b>Conclusion</b> .....	40
<b>Liste des références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## LISTE DES FIGURES

<b>Fig. 1</b> : Aspect de <i>S. aureus</i> en microscopie électronique .....	04
<b>Fig. 2</b> : Les différents types des infections Staphylococciques .....	06
<b>Fig. 3</b> : Croissance bactérienne en milieu liquide .....	09
<b>Fig. 4</b> : <i>Evernia prunastri</i> et la forme de thalle .....	12
<b>Fig. 5</b> : Quelques structures de composées d' <i>Evernia prunastri</i> .....	15
<b>Fig. 6</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions chloroformiques contre la souche S225 .....	20
<b>Fig. 7</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions chloroformiques contre la souche ATCC 43300.....	21
<b>Fig. 8</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions chloroformiques contre la souche S56 .....	21
<b>Fig. 9</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions chloroformiques contre la souche S220 .....	22
<b>Fig. 10</b> : Image représentant l'activité de différentes fractions chloroformiques contre les souches de <i>S. aureus</i> testées.....	22
<b>Fig. 11</b> : Image représentant l'activité de différentes fractions d'acétate d'éthyle contre les souches de <i>S. aureus</i> testées.....	23
<b>Fig. 12</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions d'acétate d'éthyle contre la souche S 225 .....	24
<b>Fig. 13</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions d'acétate d'éthyle contre la souche ATCC 43300.....	24
<b>Fig. 14</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions d'acétate d'éthyle contre la souche S 56 .....	25
<b>Fig. 15</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions d'acétate d'éthyle contre la souche S 220 .....	25
<b>Fig. 16</b> : Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche ATCC 43300 .	33
<b>Fig. 17</b> : Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche S 225 .....	34
<b>Fig. 18</b> : Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche S 220.....	35
<b>Fig. 19</b> : Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche S 56.....	36
<b>Fig. 20</b> : Effet de fraction J sur la cinétique de croissance de la souche ATCC 43300.....	37
<b>Fig. 21</b> : Effet des fractions O, Q et H sur la cinétique de croissance de la souche S225 .....	38
<b>Fig. 22</b> : Effet de fraction J sur la cinétique de croissance de la souche S 220 .....	38
<b>Fig. 23</b> : Effet des fractions I et F sur la cinétique de croissance de la souche S56 .....	39

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableaux I : Origine des souches testées .....</b>	<b>16</b>
---	-----------



## LISTES DES ABREVIATIONS

**TSST-1** :Toxie Shock Syndrom Toxin 1

**SCCmec** :*Staphylococcal* Cassette Chromosome **mec**

**SARM** :*Staphylococcus aureus* Résistant à la Mériciline

*S. aureus* :*Staphylococcus aureus*

**MRSA** :Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*

**CMH** :Complexe Majeur d'histocompatibilite

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide

**CMI** :Concentration Minimale Inhibitrice

**BORSA** : Border- line Resistant *S. aureus*

**EARSS** :European Antimicrobial Resistance Surveillance

**PLP** : Protéine Liant la Pénicilline

**SARM-C** :*Staphylococcus aureus* Résistant à la Mériciline Communautaire

**SARM-N** :*Staphylococcus aureus* Résistant à la Mériciline Nosocomiale

## GLOSSAIRE

**Les folliculites:** les plus fréquentes, sont dues au staphylocoque doré. Superficielles, elles se traduisent par la formation de petites pustules centrées autour d'un poil sur la barbe, les bras, les cuisses ; elles guérissent spontanément ou deviennent chroniques. Les furoncles et les anthrax sont des folliculites profondes. Leur traitement consiste en application d'antiseptiques, parfois en prise d'antibiotiques par voie orale.

**Impétigo:** Maladie cutanée contagieuse, due à une infection locale superficielle par des germes pyogènes (staphylocoque [*impétigo de Bockhart*] ou streptocoque [*impétigo vrai* ou de *Tilbury-Fox*]) développant une lésion bulleuse qui se transforme rapidement en pustule donnant naissance à une croûte jaunâtre. (L'impétigo atteint surtout les enfants en collectivité ; il affecte surtout la face et le cuir chevelu.

**anthrax:** Tumeur inflammatoire du tissu cellulaire, plus grosse que le furoncle.

**trachéotomisés:** effectuer une trachéotomie intervention qui consiste à ouvrir la trachée-artère au niveau de cou lorsque existe un risque d'asphyxie..

**onyxis:** Toute inflammation d'un ongle .

**Hidrosadénite:** Inflammation aiguë ou chronique des glandes sudoripares .

**Foliacés:** Forment des thalles en forme de lame ou de feuilles, ils sont faiblement appliqués au substrat et sont facilement détachables par endroits.

**Fruticuleux:** Présentent des formes barbues ou en lanière et sont fixés en un seul point au support.



***SNTHESE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

Les antibiotiques représentent l'un des groupes de médicaments les plus employés en médecine. Cependant, l'usage massif et parfois abusif de ces derniers a contribué à l'émergence de bactéries multi-résistantes, qui représentent un problème clinique mondial, parmi les quelles *Staphylococcus aureus* sont considérées comme étant les pathogènes multi-résistant les plus redoutés dans les infections nosocomiales et communautaires (**Cavallo et al., 2004 ; Gordon et Wareham, 2010**).

La bactérie *Staphylococcus aureus* est responsable de nombreuses infections chez l'Homme et compte parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés des infections (**Vincenot et al., 2008**).

Plusieurs souches de Staphylocoque sont maintenant considérées multi-résistantes et les premières souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) ont été décrites pour la première fois en 1961 (**Tremblay, 2008; Vincenot et al., 2008**).

SARM sont des bactéries qui ont une grande importance en médecine humaine, ils sont résistants à tous les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines. De plus, les SARM sont souvent résistants à un grand nombre d'autres antibiotiques et le traitement des infections causées par ce pathogène est beaucoup plus coûteux que celui d'une infection à *S. aureus* (**Lodise et al., 2007**).

Le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques a conduit les scientifiques à chercher des substances naturelles dotées d'activité antimicrobienne. Tels, les substances extraites de lichens et qui peuvent présenter de nouvelles sources alternatives de substances bioactives ( **Karithikai et al., 2011**). L'intérêt de l'utilisation médicinale de ces derniers est due à leurs métabolites secondaires qui présentent d'éventuelles propriétés biologiques, y compris antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antivirales, anticancéreuses (**Karithikai et al., 2011**).

En effet, les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches *in vivo* comme *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques ( **Karithikai et al., 2011**).

Parmi les lichens nous avons l'espèce *Evernia prunastri*, espèce la plus utilisée dans l'industrie de parfum, appliquée dans notre étude dont études les métabolites de cette espèce et qui s'avèrent avoir plusieurs activités biologiques (**Alpsoy et al., 2013**).

Dans ce contexte, s'inscrit dont le but principal est d'étudier l'effet des fractions chloroformiques et d'acétate d'éthyle de lichen *Evernia prunastri* de la région de Taher sur la

## Introduction

---

cinétique de croissance de *Staphylococcus aureus* dont une est résistante à la méticilline (SARM).

Pour développer cet aspect nous avons procédé comme suit :

- Etude de l'activité antibactérienne de diverses fractions par la méthode des disques (aromatogramme sur milieu solide) ;
- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) par la méthode en microdilution (aromatogramme en milieu liquide) ;
- Etude de l'effet des fractions les plus actives sur la cinétique de croissance de *Staphylococcus aureus*.
- Analyse statistique de différents résultats obtenus.

***CHAPITRE I : GENERALITE  
SURSTAPHYLOCOCCUS AUREUS  
ET SARM***

## 1. Généralités sur *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* est une bactérie ubiquitaire que l'on retrouve fréquemment sur la peau et dans les narines des personnes. C'est une bactérie commensale de la flore cutanéomuqueuse de L'Homme. Un portage nasal permanent est retrouvé chez 30 % des individus. Il est également responsable d'infections variées aussi bien en milieu communautaire qu'hospitalier et c'est l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines. Son pouvoir pathogène est lié particulièrement à l'expression de nombreux facteurs de virulence (Nour et al., 2005 ; Nhan et al., 2012).

## 2. Taxonomie et Classification

Le nom commun « *Staphylococcus* » qui dérive du grec « staphyle » qui signifie grappe de raisin, et « kokkos » qui signifie grain, a été proposé par Ogeston en 1883 (Frene et al., 2007).

Selon « Bergey's Manuel of systematic bacteriology » l'espèce *Staphylococcus aureus* est classée comme suit :

**Domaine :** *Bacteria*

**Phylum :** *Firmicutes*

**Classe :** *Bacilli*

**Ordre :** *Bacillales*

**Famille :** *Staphylococcaceae*

**Genre :** *Staphylococcus*

**Espèce :** *Staphylococcus aureus* (Dworkin et al., 2006)

## 3. Habitat

*Staphylococcus aureus* est très répondeu dans la nature (le sol, l'eau, l'air, les poussières et la surface des plantes) (Leclere et al., 1995). Cette bactérie est très répondeue chez l'Homme et dans de nombreuses espèces animales (Grosjean et al., 2011). Chez l'Homme, environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses (principalement les fosses nasales) et les zones cutanées humides (les périnées, les aisselles) (Nauciel et Vildé, 2005).

#### 4. Caractères bactériologiques et cultureux

*S. aureus* sont des coques à Gram positif de 0,5 à 1,5µm de diamètre qui sont associées par paire, en chaînettes de 3 à 5 coques, ou en amas irréguliers en « grappe de raisins ». Ils sont immobiles et non sporulés (fig. 1) (Sutra et al., 1998 ).



**Fig. 1** : Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (X 20000)( Alioua, 2015)

*S. aureus* est une bactérie aérobie-anaérobie facultatif, c'est un germe mésophile dont la température optimale de croissance est comprise entre 30 à 37°C (Sutra et al., 1998). Il se cultive facilement sur les milieux usuels et aussi sur des milieux riche en NaCl (Freney, 2007).

Il est capable de se multiplier à des valeurs de pH comprise entre 4,2 et 9,3 avec un pH optimal de croissance de 7 à 7,5 (Sutra et al., 1998).

Sur milieux gélosés *S. aureus* produit des colonies circulaires, à bord régulier, bombées et luisantes et plusieurs de souches de *S. aureus* produisant des colonies pigmentées en jaune doré plus ou moins intense (Sutra et al., 1998).

Elle possède une coagulase (enzyme provoquant la coagulation du plasma), ce qui la distingue de la plus part des autres espèces de Staphylocoques, et peut produire également de nombreuses toxines (Freney, 2007).

#### 5. Facteurs de virulences

La virulence des souches de *S. aureus* est liée à la production d'une grande variété des composés (Sutra et al., 1998) qui sont associées à :

##### Paroi

Protéine A: adhésine et facteurs de protection contre la phagocytose. Coagulase liée ou Clumping factor: récepteur pour le fibrinogène permettant l'agrégation bactérienne grâce aux ponts de fibrines (Bainchi et al., 2013).



### Facteurs de virulence excrétés

- a) Hémolysines : responsable d'une hémolyse B complète (**Bainchi et al., 2013**)
- b) Coagulase libre : C'est une protéine provoquant la coagulation du plasma humain ou de lapin. Elle joue un rôle dans la formation de thrombophlébites suppurées et inhiberait la phagocytose (**Avril et al., 1992**).
- c) Super antigènes : ces toxines pyrogènes se lient au CMH de type II et causent une prolifération majeure de lymphocytes T avec production de cytokines, il y a :
  - Entérotoxines : Elles sont responsables du choc toxique staphylococcique et de toxico-infection alimentaire.
  - TSST-1 (toxicshocksyndromtoxin 1): Impliquer dans la majorité des cas de choc toxique Staphylococcique (**Nauciel et Vildé, 2005**)
- d) Leucocidine de Pantan-Valentine (PVL): Détruit très spécifiquement les polynucléaires et les macrophages de l'homme et du lapin , sur lesquelles elles se fixent et provoquent la formation de canaux membranaires laissant passer les cations divalents ( **Gordon et Lowy, 2008**).

## 6. Pouvoir pathogène

Les manifestations cutanées des infections staphylococciques peuvent être liées au développement local d'une infection suppurative ou bien à l'expression d'une exotoxine. *S. aureus* peut être à l'origine d'une :

- Infection superficielle se traduit par un impétigo, un onyxis ou une folliculite ;
- Infection profonde qui est représentée par des abcès ;
- intrafolliculaires de toute la gaine du poil appelés furoncles, ou par des infections des canaux des glandes sudoripares appelées hidrosadénites ;
- L'anthrax est un conglomérat de furoncles formant de gros nodules inflammatoires pleins de pus. Furonculose et hidrosadénite peuvent être récidivantes. Ces récidives sont parfois liées à des facteurs déclenchant : diabète, surmenage...

On observe aussi des infections cutanées associées à la présence de cathéters ainsi que des psoriasis ou des eczémas (**Dumitrescu et al., 2008**).

### 6.1. Septicémies à *S. aureus*

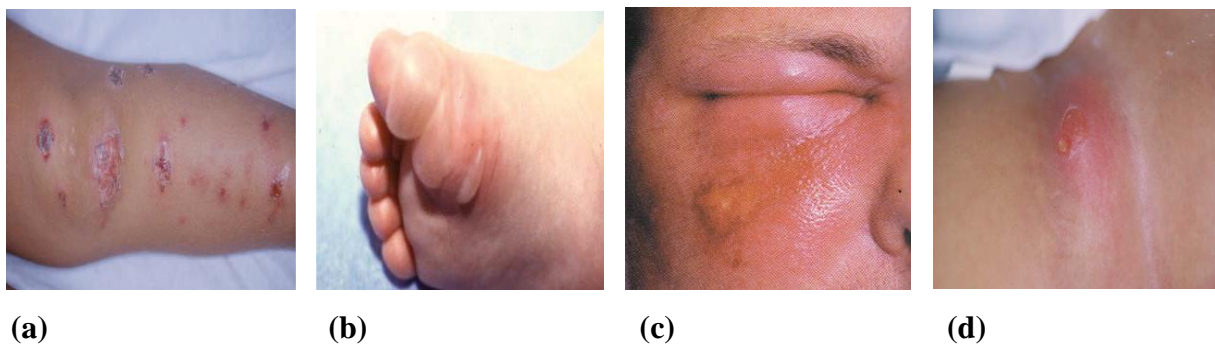
Elles correspondent à la multiplication et la dissémination de *S. aureus* dans la circulation sanguine (**Sutra et al., 1998** ).

Les staphylococcémies sont causées et entretenues par un foyer infectieux primaire compliqué de thrombophlébite, ce sont des infections fréquentes, d'une gravité préoccupante et son évolution est émaillée de métastases septiques (Avril *et al.*, 1992).

Notamment au niveau de poumon et de l'appareil osteoarticulaire, plus rarement au niveau de l'appareil urinaires ou de système nerveux central (Nauciel et Vildé, 2005).

## 6.2. Toxi-infections alimentaires

Elles sont dues à l'ingestion d'entérotoxines, préformées dans l'aliment, résistant aux sucs digestifs et pour certaines à la chaleur, entraînant des troubles d'apparition précoce avec vomissements, diarrhée, déshydratation et absence de fièvre (fig. 2) (Avril *et al.*, 1992).



**Fig. 2 :** Les différents types des infections Staphylococciques. (a): Impétigo Staphylococcique de la jambe, (b): Impétigo bulleux Staphylococcique, (c): Folliculite de la joue, (d): Abcès cutané primitif ( Dumitrescu *et al.*, 2008; Mermin *et al.*, 2016).

## 7. Mécanisme de résistance des *S. aureus*

Les espèces de *S. aureus* Résistant à la Méricilline (SARM) sont considérées comme résistant a tous les bêta-lactamines, y compris les pénicillines, les céphalosporines, et la méricilline (Seal *et al.*, 2003).

Deux principaux mécanismes sont impliqués dans la résistance acquise de SARM aux b-lactamines : la production de b-lactamases et la modification de la cible des antibiotiques (Nour *et al.*, 2005; Aubin *et al.*, 2015).

### 7.1. Modification de la cible

La résistance acquise par ces bactéries à la quasi-totalité des  $\beta$ -lactamines est liée à l'expression d'une Protéine Liant la Pénicilline modifiée (PLP2a) (Clavilier *et al.*, 2001). Cette protéine est codée par le gène *mecA* dont l'expression dépend au moins de deux systèmes régulateurs agissant au niveau transcriptionnel (Nour *et al.*, 2005). Le gène *mecA* est localisé sur la cassette chromo-somale staphylococcique (CCS), un élément génétique mobile. Cette cassette

contient les gènes responsables de la régulation de l'expression du *mecA*. Environ, cinq types majeurs de *mecCCS* ont été identifiés (I-V) : les types I, II et III sont ceux retrouvés le plus fréquemment dans les isolats du SARM-N, ils confèrent une résistance à d'autres antibiotiques en plus des bêta-lactames ; les types IV et V sont plus petits, caractérisent plutôt les SARM-C et ne confèrent pas de résistance à d'autres antibiotiques que les bêta-lactames (**Rybaket et Laplante, 2005**).

Le système de gène *mecI* et *mecR1* est situés en amont du gène *mecA*. La protéine MecR1, produite du gène *mecR1*, agirait comme transducteur de signal : MecRI détecte la présence de  $\beta$ -lactamine grâce à son domaine extracellulaire. Une fois l'antibiotique est lié, il y a activation du domaine intracellulaire. Celui-ci subirait une activation par protéolyse limitée lui conférant une activité protéasique. Cette dernière conduit à la dégradation du MecI (répresseur de la transcription codé par *mecI*) qui est fixée au niveau de l'opérateur d'où libération de ce dernier et expression du *mecA*. Le système *mecI-mecR1* exerce donc une répression transcriptionnelle sur *mecA*. Il semble que la majorité des SARM aient un système *mecI-mecR1* non fonctionnel soit par délétion de ces gènes soit par mutation ponctuelle (**Nour et al., 2005**).

## 7.2. Résistance par production enzymatiques

A côté du *S. aureus* producteur de la PLP2a, il existe des souches ne possédant pas le gène *mecA*, tout en exprimant un bas niveau de résistance à la méticilline : Certaines souches sont hyperproductrices de bêta-lactamase, ce sont les souches BORSA (Bordeline résistant *S. aureus*), qui présentent une résistance à la méticilline à cause d'une production accrue de bêta – lactamases. Quelques souches semblent également produire une méticillinase capable d'hydrolyser la méticilline (**Nour et al., 2005 ; Dia, 2014**).

## 8. Mode de transmission

La source principale de SARM est constituée par la réadmission des patients qui se sont colonisés ou infestés lors d'un séjour précédent dans le même hôpital, ou dans un autre hôpital avec SARM. Les réadmissions peuvent se faire à partir du domicile ou à partir d'établissements médico-sociaux (**Ruef, 1995**).

Les modes de transmission sont de 4 types

- Le plus important est certainement de patient à patient. (**Williams et al., 2017**) ;
- Par l'intermédiaire du personnel soignant (**Dumitrescu et al., 2008**) ;
- La transmission aérienne chez des patients trachéotomisés et au cours des épidémies inter hospitalières (**Ruef, 1995**) ;
- La transmission par le matériel et l'environnement inerte (**Ruef, 1995**).

## 9. Epidémiologie

Aux États-Unis la proportion de SARM-C représente en moyenne 59 % des souches de *S. aureus* isolées des infections de la peau et des tissus mous prises en charge aux urgences des hôpitaux américains (**Dumitrescu et al., 2008**).

Une situation similaire a été rapportée en Afrique du Nord. Ainsi, dans une population de 120 souches de *S. aureus* isolées des infections communautaires en 2007 à Alger, la proportion de SARM-C s'élevait à 48,8 %. En Europe, la distribution n'est pas uniforme : il existe des pays à faible diffusion, tel le Royaume-Uni avec moins de 2 % de SARM isolés dans les infections communautaires à *S. aureus*, mais aussi des pays à forte diffusion, telle la Grèce (75 % de souches de SARM circulant dans la communauté) (**Dumitrescu et al., 2008**).

En France, même si le SARM reste endémique, sa proportion a diminué au cours de ces dernières années. En 2011, d'après les données épidémiologiques de l'EARSS 20,1 % des souches de *S. aureus* isolées d'hémocultures sont des SARM (**Margat, 2012**).

## 10. Facteur de risque du SARM

- les facteurs de risque liés au nombre de réservoirs possibles et au nombre d'occasions de transmission croisée (transfert d'un autre service hospitalier en particulier la réanimation et les secteurs de long séjour, durée de séjour hospitalière supérieure à sept jours, antécédent d'hospitalisation en réanimation ou en chirurgie dans les cinq ans), la notion de voyage *récent* dans un pays à forte prévalence (**Lucet et al., 2003**) ;
- les facteurs de risque liés à l'état du patient (âge supérieure à 60 ans, gravité de la pathologie ex: diabète, cancer, insuffisance rénale, comorbidités, présence de lésions et cutanées ouvertes) (**Lucet et al., 2003**) ;
- les facteurs de risque liés à l'usage des antibiotiques : une relation entre consommation d'antibiotiques et acquisition de SARM a été retrouvée dans de nombreuses études (**Monnet, 2003 ; Mullar et al., 2003**). Les céphalosporines de 3ème génération et les fluoroquinolones sont les antibiotiques le plus souvent incriminés (**Scanvic et al., 2001**).

## 9. Cinétique de la croissance bactérienne

Toutes les bactéries développent une même cinétique de croissance, exprimée par une courbe de croissance, exprimée en nombre de cellules ou en masse bactérienne par unité de volume du milieu de culture, en fonction de temps cette cinétique se déroule en 4 étapes consécutives (fig. 03) (**Bousseboua, 2002**).

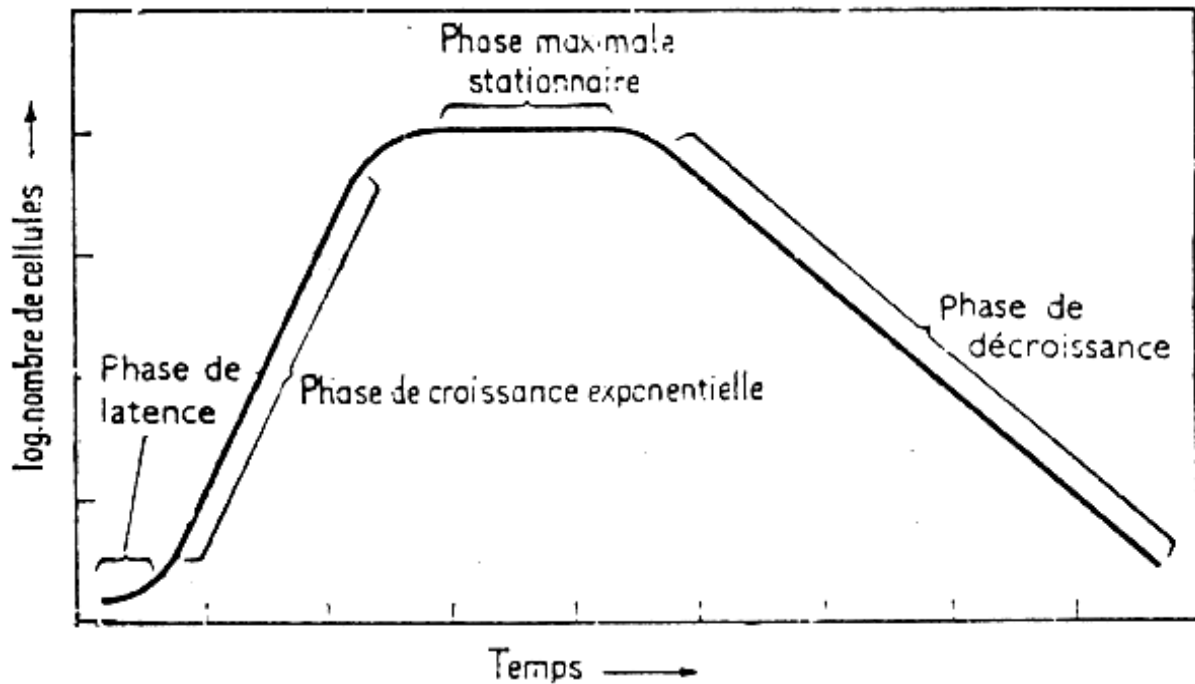


Fig. 3 : Croissance bactérienne en milieu liquide (Nauciel et Vildé, 2005).

- **phase de latence**

Le taux de croissance est nul ( $\mu=0$ ). La durée de cette phase dépend de l'âge des bactéries et de la composition du milieu. C'est le temps nécessaire à la bactérie pour synthétiser les enzymes adaptées au nouveau substrat, dans certains cas, cette phase peut être très courte ou absente.

- **phase exponentielle**

En cette phase, la croissance est maximale et constante ( $\mu=\max$ ). Les cellules filles, nouvellement produites, croissent au même taux que leurs cellules mères. Le nombre de cellules en culture et leur masse augmentent proportionnellement avec le temps. (Bousseboua, 2002). Dans des conditions favorables, le temps de doublement de la plupart des bactéries est le plus court (Nauciel et Vildé, 2005).

- **phase stationnaire**

La croissance s'arrête et il n'y a ni augmentation ni diminution nettes du nombre de cellules ou de leur biomasse, le taux de croissance est nul ( $\mu=0$ ). Ceci se traduit graphiquement par un plateau de durée variable mais généralement courte. (Bousseboua, 2002).

- **phase de décroissance**

Appelée aussi **phase de déclin**, le taux de croissance est négatif ( $\mu < 0$ ), toutes les ressources nutritives sont épuisées. La mort cellulaire est caractérisée par l'absence de réplication irréversible. La phase de décroissance est très rapide chez les bactéries thermophiles, elle est plus lente chez les mésophiles et psychrophiles (**Bousseboua, 2002**).

***CHAPITRE II : LICHENS ET  
ACTIVITE  
ANTISTAPHYLOCOCCIQUE***

## 1. Généralité sur les lichens

Les lichens sont des organismes symbiotiques composés d'un champignon (mycobionte) et d'un partenaire photosynthétique (photobionte), qui peut être une algue ou une cyanobactérie (**Kosanic et al., 2013**).

Ces organismes à croissance lente sont des ressources végétales importantes et sont utilisés à de nombreuses fins (**Alpsoy et al., 2015**). Ils sont présents sur les écorces, les tiges, les feuilles et dans le sol (**Kosanic et al., 2013**).

Environ de 300 genres et 18 000 espèces de lichens sont reconnus. Plus de 800 métabolites secondaires ont été identifiés dans ces derniers. Certains de ces métabolites sont spécifiques aux lichens et sont produits pour protéger et maintenir l'association symbiotique de divers facteurs biotiques et abiotiques. L'utilisation médicinale des lichens est due à leurs métabolites secondaires, qui ont un large éventail d'actions biologiques, y compris antimicrobiens (anti-inflammatoire, antiviral et anticancéreux) (**Alpsoy et al., 2015**). Parmi ces lichens nous avons une espèce qui est très commune est très répandue dans la région de Jijel qui est *Evernia prunastri* (**Elrhzoui et al., 2015**)

## 2. *Evernia prunastri*

*Evernia prunastri* est une espèce acidophytique fruticuleuse disparaissant facilement dans des conditions de pollution atmosphérique (**Munzi, 2013**). Il vit sur toutes les espèces d'arbres et se développe principalement sur l'écorce des arbres de chêne, mais également dans une certaine mesure sur des sapins et des arbres de pin dans des atmosphères humides à très humides (**Loppi et Frati, 2006**). Il pousse plus rarement sur les rochers, à l'ombre ou au soleil (**Karabulut et Osturk, 2015**). Cette espèce *E. prunastri* peut être altérée lorsqu'elle est exposée à des conditions sèches et à la pleine lumière du soleil (**Munzi, 2013**).

### 2.1. Description de l'espèce

*E. prunastri* présente un thalle à aspect buissonnant formé de lanières plates de 3 à 10cm de hauteur, de type arbustif formant des rameaux en lanières (**Bellenfant et al., 2010**). Le thalle de cette espèce est foliacé, mais attaché à un point et apparaissant fruticuleux (**Kosanic et al., 2013**).

Les lobes plutôt doux en forme de courroie, surface supérieure vert-gris à vert pâle-jaune, surface inférieure grisâtre blanche, sorédies rondes fréquente ou rare le long des marges et à la surface des branches (**Karabulut et Osturk, 2015**).

La couleur d'*E. prunastri* varie du vert au blanc verdâtre quand il est sec, et de l'olive vert foncé au



jaune-vert lorsqu'il est frais. La texture des thalles est rugueuse lorsqu'elle est sèche et caoutchouteuse lorsqu'elle est fraîche (fig. 4) (Kosanic et al., 2013).



Fig. 4 : *Evernia prunastri* et la forme de thalle (Douibi et al., 2016; Maslac et al., 2016 ).

## 2.2. Classification

L'espèce d'*Evernia prunastri* est classifiée comme suit :

- Règne : Fungi
  - Division : Ascomycota
    - Classe : Lecanoromycetes
      - Ordre : Lecanorales
        - Famille : Parmeliaceae
          - Genre : *Evernia*
            - Espèces : *Evernia prunastri* (Solak, 2016)

## 3. Métabolites licheniques

Les lichens produisent une large variété de composés organiques divisés en deux groupes principaux : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Mitrovic et al., 2011).

### 3.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires regroupent les protéines, les lipides, les polyols, les polysaccharides, les pigments (chlorophylles, xanthophylles, carotènes...) et autres composés organiques intervenant dans le métabolisme et la structure des lichens (Podterob, 2008). Ils sont produits par le champignon et le photobionte (algue verte ou cyanobactérie). Ils ne sont pas spécifiques aux lichens et sont également retrouvés chez les champignons, les algues et plantes supérieures. Ils sont produits en

grande quantité dans les lichens et sont principalement des  $\alpha$ - ou  $\beta$ -glucanes linéaires ou peu substitués, des galactomannanes, des galactoglucomannanes, et des hétéroglycanes complexes (Dieu, 2015).

### 3.2. Métabolites secondaires

L'étude phytochimique des lichens se focalise particulièrement sur les métabolites secondaires et plus de 1050 métabolites ont été isolés à partir de ces derniers (Culberson, 1970).

Les lichens montrent un métabolisme particulier qui se traduit par la biosynthèse de substances phénoliques fréquemment spécifiques (Quilhot et al., 1992).

Ils sont communément subdivisés en acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque ou dérivés de l'acide cinnamique), coumarines, stilbènes, flavonoïdes, lignanes, lignines, tanins. (Cheynier, 2005 ; Georgé, 2005).

La définition des composés phénoliques prend en compte, à la fois des éléments structuraux et l'origine biologique des composés. Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les tissus et les stades physiologiques (Bruneton, 2009).

### 4. Substance bioactive lichéniques douée d'activité anti-staphylococcique

De nombreuses recherches se tournent vers l'étude des extraits et de composés issus de micro-organismes ou de végétaux. Les lichens sont moins étudiés mais suscitent un intérêt grandissant en vue des composés bioactifs qu'ils synthétisent. Les activités biologiques des métabolites secondaires lichéniques isolés sont également décrites ; le composé lichénique le plus étudié est l'acide usnique (Zambare et Christopher, 2012).

Face au développement de la résistance bactérienne aux traitements antibactériens conventionnels, les métabolites lichéniques sont étudiés comme substances alternatives. En effet, plus de 50 % de lichens possèderaient une activité antibiotique et représenteraient donc une source importante de nouveaux composés bioactifs (Zambare et Christopher, 2012).

Sur 42 espèces de lichens testées, en particulier celles appartenant au genre *Cladonia*, 27 se sont révélées actives contre *Staphylococcus aureus* (Burkholder et al., 1944).

- Les acides protocétrarique et usnique, isolés de *Flavoparmelia caperata* se sont montrés actifs en particulier contre les souches de *Staphylococcus aureus* (Kokubun et al., 2007) ;

- Les acides didymique et condidymique, dibenzofuranes de structures proches de l'acide usnique, ont été isolés *Cladonia rangiferina* et sont actifs contre des souches de *S. aureus* résistantes (Yoshikawa et al., 2008) ;
- L'activité antibactérienne contre *S. aureus* d'un extrait méthanolique de *Stereocaulon paschale* (Serbie) a été rapportée dans la littérature. De plus, certains dibenzofuranes aromatiques tels que l'acide didymique, l'acide condidymique et la strepsiline ont montré une activité contre *Staphylococcus aureus* ;

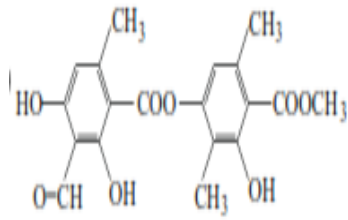
### 5. Distribution des composés d'*Evernia prunastri*

*Evernia prunastri* produit plusieurs métabolites secondaires : l'acide evernique, l'acide usnique, l'atranorine et la chloratranorine sont déposés principalement dans le cortex (Millanes et al., 2003 ; Lackovicova et al., 2013).

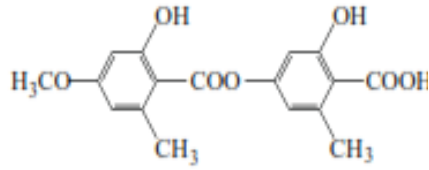
L'acide usnique est l'une des substances de lichen les plus courantes (Joulain et Tabacchi, 2009). Il s'agit d'une substance cristalline de couleur jaune. Il est optiquement actif et les deux formes se trouvent dans les lichens; Les températures de fusion et les rotations spécifiques de ces formes sont essentiellement identiques. Il se dissout bien dans le benzène, le chloroforme, l'alcool amylique et l'acide acétique glacial, peu soluble dans l'éthanol, l'éther de pétrole et l'éther diéthylique et insoluble dans l'eau (Podterob, 2008).

La chloroatranorine et l'acide usnique sont les plus abondants dans la médulla (Millanes et al., 2003) et l'acide evernique se trouve principalement dans le thalle à des concentrations nettement plus élevées que l'acide usnique (Ramaut, 1965).

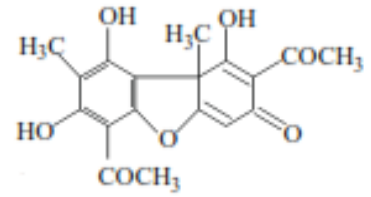
L'atranorine, l'un des phénols les plus abondants dans *Evernia prunastri*, est principalement situé dans le cortex (Millanes et al., 2003). C'est une substance cristalline incolore avec une température de fusion de 192 à 194 °C. La méthode classique pour l'extraction de l'atranorine repose sur les différentes solubilités des substances lichéniques dans les solvants organiques. L'atranorine est plus soluble dans le benzène, le chloroforme et le xylène bouillants, peu soluble dans l'éthanol bouillant et l'éther diéthylique et insoluble dans l'eau, l'éthanol froid et l'éther diéthylique froid ( fig. 5) (Podterob, 2008).



Atranorine



Acide evernique



Acide usnique

**Fig. 5 :** Quelques structures de composées d'*Evernia prunastri* (Podterob, 2008).



***MATERIEL ET METHODE***

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Microbiologie de l'Université de Jijel, durant la période Avril-Mai de l'année 2017 dont l'objectif est d'étudier l'effet de fractions chloroformique et d'acétate d'éthyle d'une espèce de lichens sur la cinétique de croissance de quelques souches de *Staphylococcus aureus*.

## 1. Matériel utilisé

### 1.1. Matériel végétal

Notre étude a porté sur douze fractions chloroformique (1-14) et vingt et une fractions d'acétate d'éthyle (A-U) d'un extrait éthanolique d'un lichen de la région de Taher. Ce lichen a été identifié en tant qu'*Evernia prunastri* par M<sup>elle</sup> Salam Samira de l'Université de Jijel (Ecologiste).

### 1.2. Matériel biologique

Pour l'étude de l'activité antibactérienne, nous avons choisis quatre souches de *Staphylococcus aureus* dont une est résistante à la méthicilline SARM. Les origines de ces souches sont reportées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau I** : Origine des souches testées

Souches testées	Origine
<i>S. aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM ATCC43300)	Souche de référence
<i>S. aureus</i> sensible à la méthicilline (S220, S225, S56)	Souches communautaires d'origine urinaire (laboratoire d'analyse médicale de la wilaya de Bejaia)

### 1.3. Matériel du laboratoire

- **Appareillage**

Le matériel utilisé tout au long du travail est le suivant :

- Etuve (37°C)
- Autoclave
- Plaque chauffante agitatrice
- Incubateur agitateur
- Microcentrifugeuse

- Spectrophotomètre
- Bain marie
- Balance
- Micropipette
- Bec Bunsen
- Vortex
- pH mètre
- Microscope optique
- Réfrigérateur

- **Milieux de culture (composition chimique, Annexe)**

Les milieux de culture utilisés sont :

- Gélose Mueller Hinton (GMH) ;
- Bouillon Mueller Hinton (BMH) ;
- Chapman
- Bouillon nutritif (BN).

- **Produits chimiques, réactifs et tampons**

Au cours de notre travail, nous avons utilisé :

- Violet de Gentiane, lugol, alcool, fuschine et l'huile à émersion pour la coloration de Gram ;
- Eau physiologique stérile ;
- Eau distillée stérile ;
- NaOH(0,1 N) et HCl (0,1 N) pour ajuster le pH ;

## 2. Méthodes

### 2.1.Activité antibactérienne

#### 2.1.1. Aromatogramme sur milieu solide (méthode des disques)

La méthode des disques est utilisée pour rechercher l'activité antibactérienne. Le milieu de culture utilisé est la gélose Mueller-Hinton (4mm d'épaisseur)(**Hammoudi et al., 2012 ; Sado et al.,2015**) .

Des disques de papier Wattman(06 mm) sont disposés à égale distance les uns des autres (jusqu'à 6disques par boîte) et de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition sur

la gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée par écouvillonnage avec la souche teste (Rasooli et Mirmostafa, 2003 ; Gachkar *et al.*, 2007).

Une longueur d'onde maximale de 580 nm (Rasooli et Mirmostafa, 2003) pour la souche à tester est introduite dans le spectrophotomètre et une suspension bactérienne initiale correspondant à une absorbance de 0,6 est préparée.

Avec une micropipette réglable de 2 à 100 µl, nous déposons aseptiquement sur chaque disque 10 µl des extraits de chaque fraction.

Les boîtes de Pétri laissées à 4°C pendant 2h sont incubées 18 à 24 heures à 37°C. Les diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne ont été mesurés en millimètre, Les essais sont réalisés en doubles et le résultat étant la moyenne des deux (Rasooli et Mirmostafa, 2003 ; Gachkar *et al.*, 2007).

Les extraits ayant présentés des diamètres des zones d'inhibition supérieurs ou égal à 12 mm (diamètre de disque est compris dans le résultat) ont été retenus pour la détermination de la CMI (Mamadou *et al.*, 2014).

### 2.1.2. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) des extraits de chaque fraction par la méthode de microdilution en milieu liquide

La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible des bactéries d'un inoculum dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées (18 à 24 heures d'incubation, à pression atmosphérique et à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéro-anaérobies) (Mamadou *et al.*, 2014).

Les CMI sont déterminées en milieu liquide dans un bouillon Mueller Hinton (BMH) dans un volume final de 200 µl, en utilisant des micro-plaques de 96 puits (Mamadou *et al.*, 2014).

Des dilutions des extraits phénoliques étudiées sont effectuées en raison de 1/2, de telle façon à obtenir une gamme de concentrations finales comprises entre 2 et 0,002mg/ml. À la fin, la microplaque sera inoculée avec de la suspension bactérienne (la charge finale dans la microplaque est de  $5 \times 10^5$  UFC/mL). Un contrôle positif de croissance contenant seulement le milieu MH et la souche teste, est utilisé.

Après 24 h d'incubation à 37°C, la lecture se fait par observation de la microplaque à l'œil nu. La CMI de composé testé est déduite à partir du premier puits de la gamme ne présentant pas de dépôt ou trouble (Vardar-Unlu *et al.*, 2003; Mahboubi et GhazianBidgoli, 2010; Mulyaningsih *et al.*, 2010; Rosato *et al.*, 2010; Pavlović *et al.*, 2012; Fontanay *et al.*, 2015).



## 2.2. Cinétique de croissance en présence des extraits des fractions les plus actives

Une aliquote de 7.8  $\mu\text{l}$  (CMI<sub>50</sub> déterminées au paravent) de fraction J pour les souches ATCC 43300 et S220; 3.9 $\mu\text{l}$  de fraction F et I pour la souche S56 et 31.2 $\mu\text{l}$  de fraction O,Q et H pour la souche S225 sont ajoutées à 10 ml du bouillon MH et qui est inoculé avec une suspension bactérienne de 0,6 ( $5.10^5$ UFC/ml finale dans le bouillon). L'ensemble est incubé à 37°C sous agitation modérée.

Des échantillons de 1ml sont prélevés après chaque 1h puis centrifugés à 140000 rpm/5min, le surnageant est rejeté et le culot est récupéré dans 2ml de l'eau physiologique par agitation à l'aide d'un vortex pour la mesure de la DO. Ce travail est suivi pendant 4h (**Gachkar et al., 2007**).

## 2.3. Etude statistique

Les moyennes et les écarts-types ont été calculés à l'aide de Microsoft Office Excel 2007. Toutes les mesures ont été reproduites deux fois et les données ont été présentées sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type.

Les différences significatives entre l'effet des différentes fractions sur la même souche testée ainsi que l'effet de la même fraction sur les différentes souches testées ont été déterminées par le test ANOVA en utilisant le logiciel Statistica.



***RESULTATS ET  
DISCUSSION***

## 1. Résultats de l'activité antibactérienne

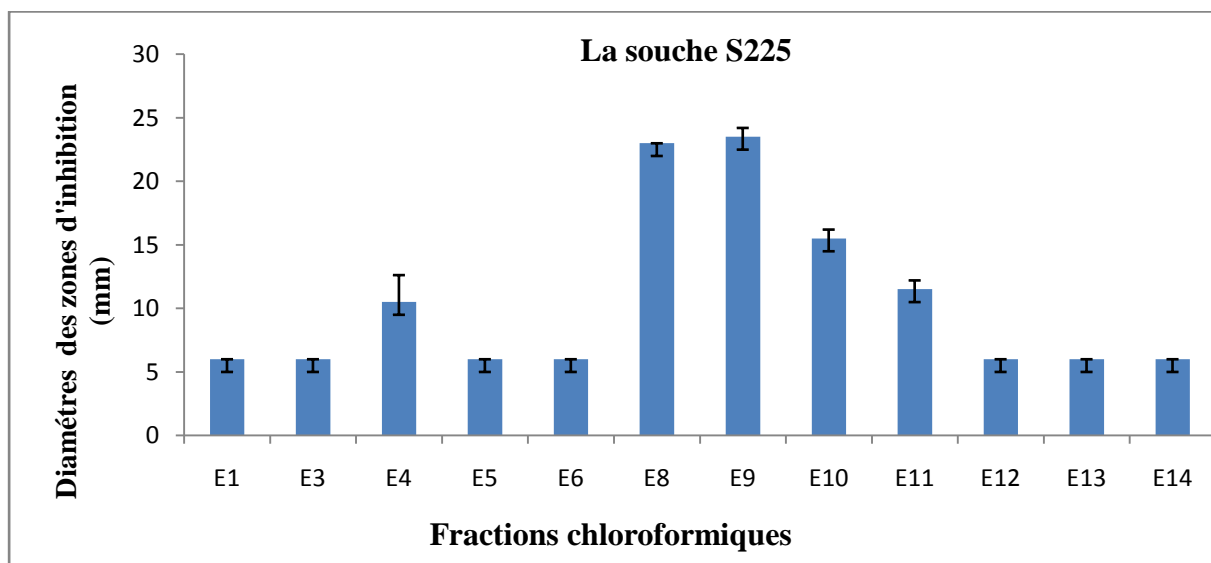
### 1.1. Aromatogramme sur milieu solide (méthode des disques)

L'activité antibactérienne des fractions chloroformiques (1-14) et des fractions d'acétate d'éthyle (A-U) d'*Evernia prunasri* contre les souches de *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300, S 225, S 220, S 56) sont évaluées par la méthode des disques. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés en mm. Les représentations graphiques de ces résultats sont présentées ci-après.

- **Pour les fractions chloroformique**

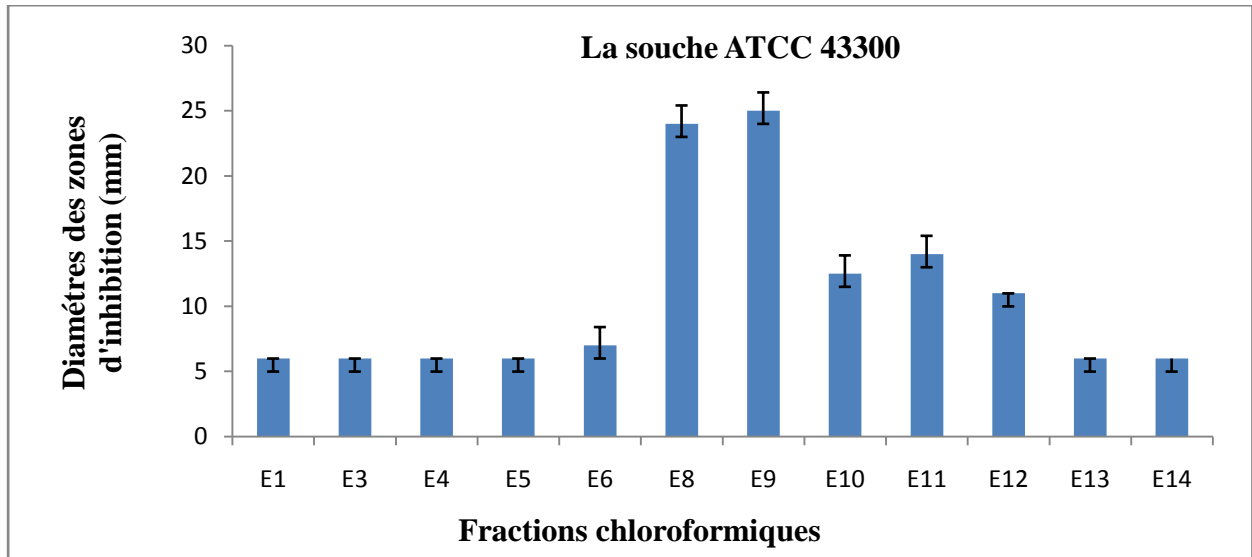
Les fractions chloroformiques testées (1-14) montrent des zones d'inhibition variant de 6 mm à 30 mm. D'après les résultats obtenus nous constatons que :

Pour la souche S 225, la fraction E9 donne la meilleure activité avec un diamètre de 23.5 mm suivi par les fractions E8 et E10 avec des diamètres de : 23, 15.5 mm respectivement (fig. 6).



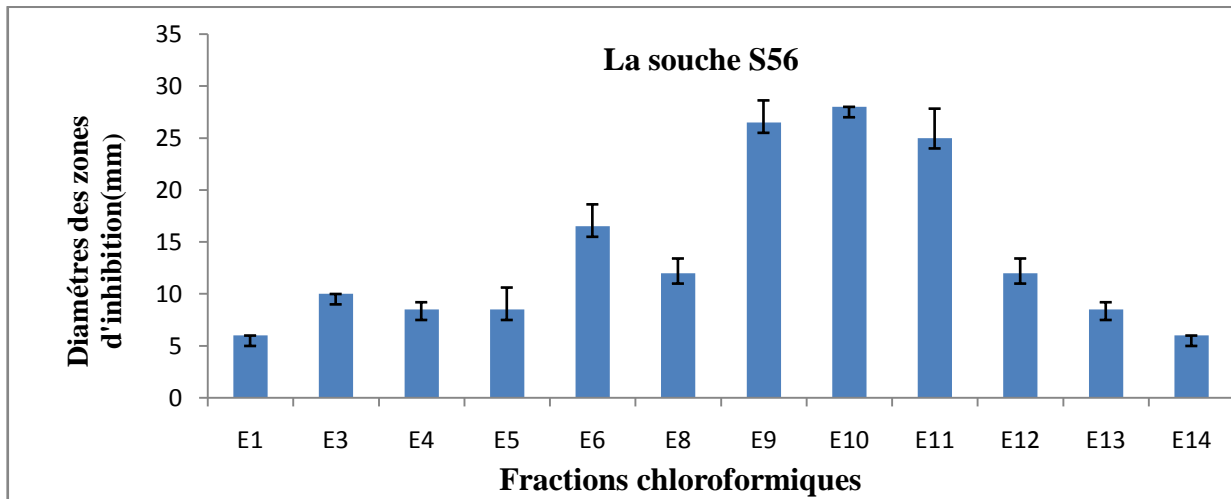
**Fig. 6** : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions chloroformiques contre la souche S225

Pour la souche ATCC 43300, la fraction E9 donne une meilleure activité avec un diamètre de 25 mm suivi par les fractions E8, E11 et E10 avec des diamètres de : 24, 14 et 12.5 mm respectivement (fig. 7).



**Fig. 7 :** Résultats de l'activité antibactérienne des fractions chloroformiques contre la souche ATCC 43300

Pour la souche S56, la fraction E10 donne une meilleure activité avec un diamètre de 28 mm suivi par les fractions E9, E11 et E6 avec des diamètres de : 26,5, 25 et 16,5 mm respectivement (fig. 8).



**Fig. 8 :** Résultats de l'activité antibactérienne des fractions chloroformiques contre la souche S56

Pour la souche S 220, la fraction E8 donne un meilleur effet avec un diamètre de 30 mm suivi par les fractions E9, E10 et E11 avec des diamètres de : 24,5, 16 et 13 mm respectivement (fig. 9).

Les autres fractions présentent des diamètres égaux ou inférieure à 12 mm pour toutes les souches (fig. 10).

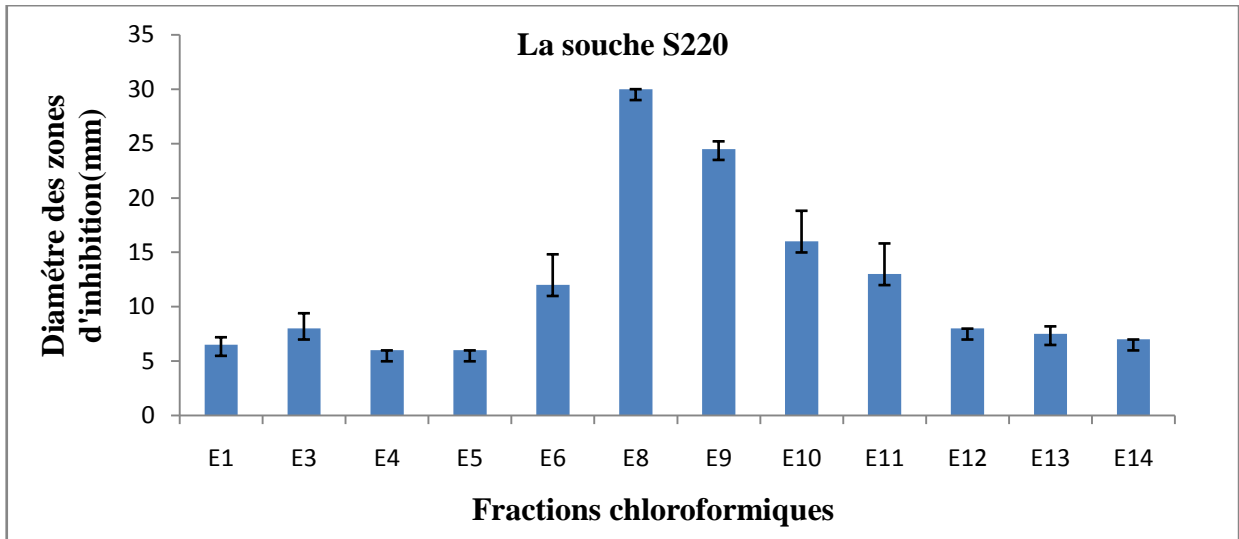


Fig. 9 : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions chloroformiques contre la souche S220

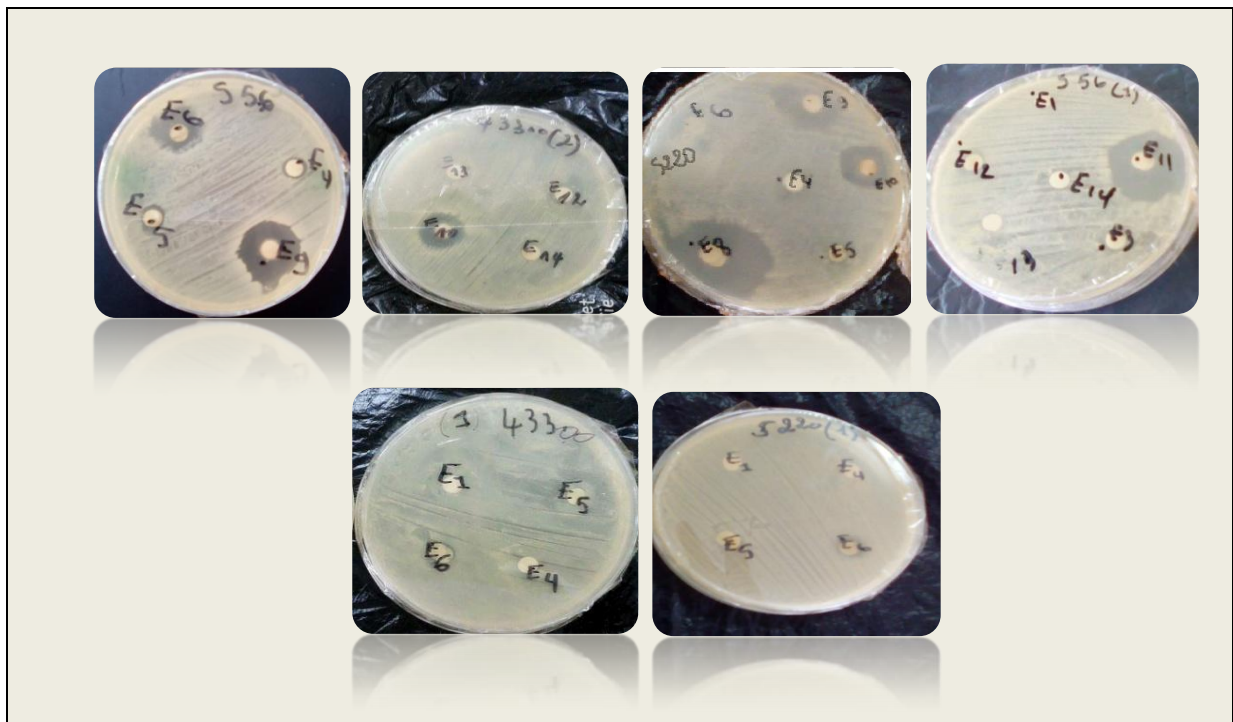
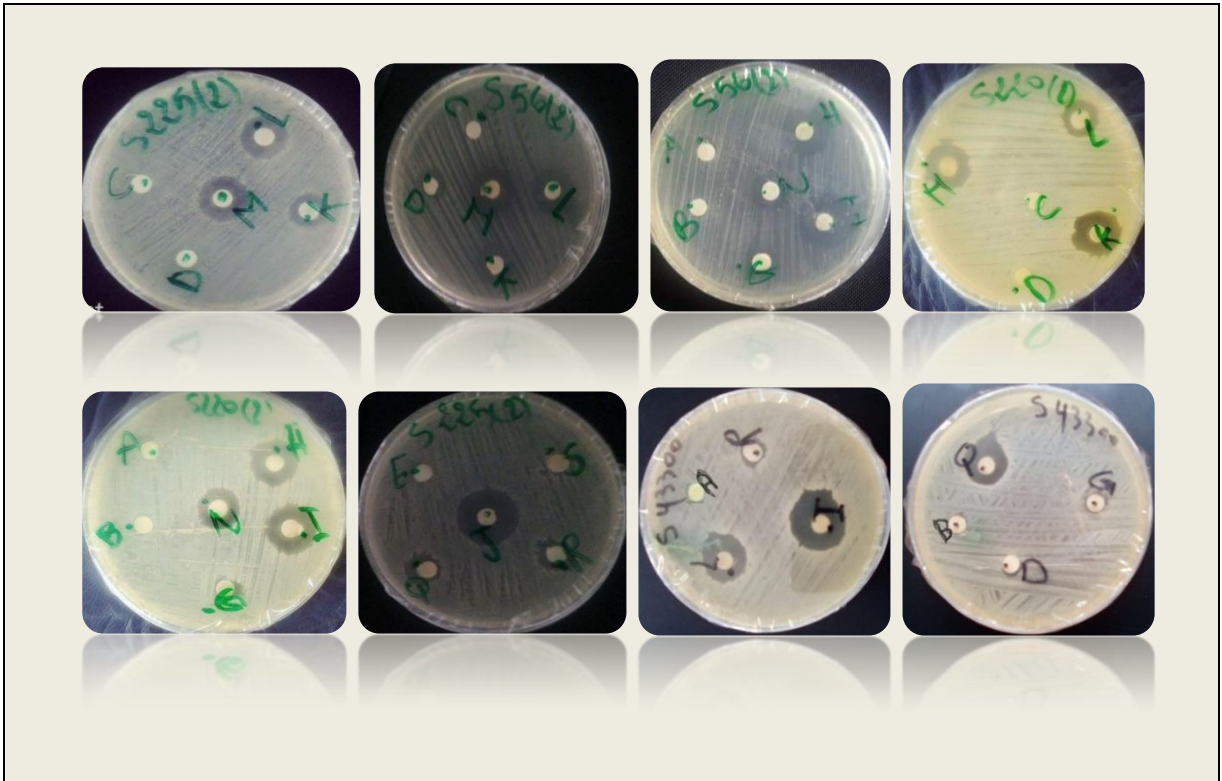


Fig. 10 : Image représentant l'activité de différentes fractions chloroformiques contre les souches de *S. aureus* testées

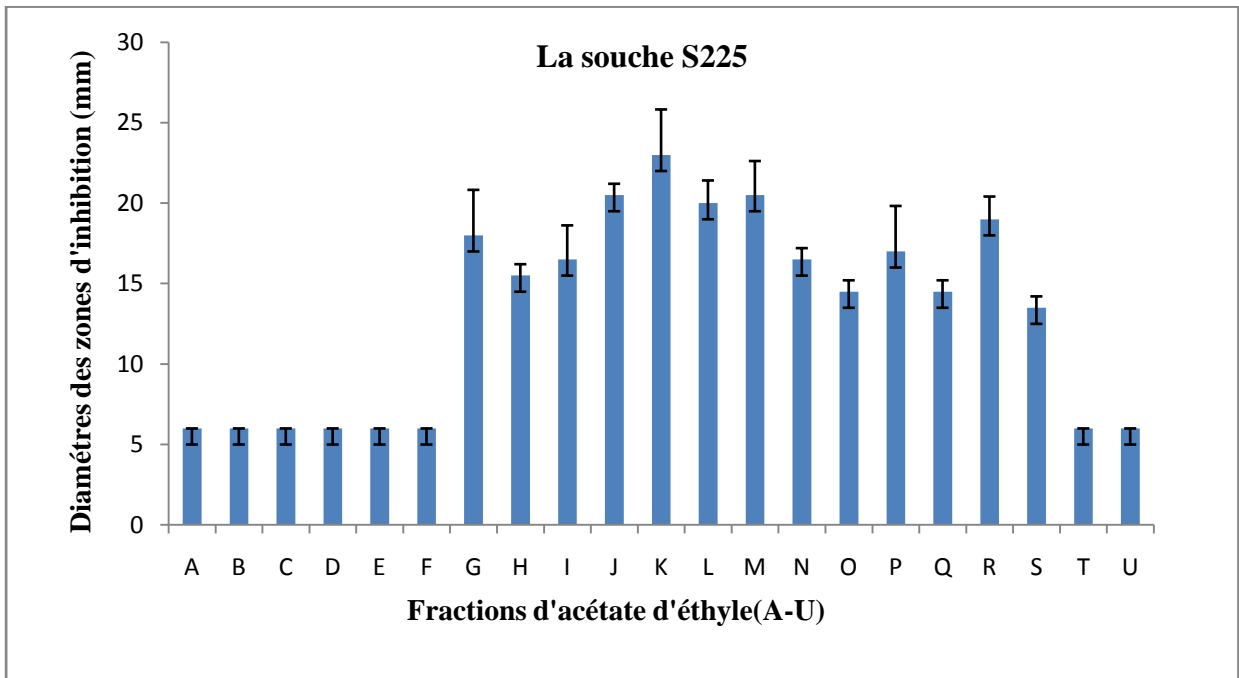
- Pour les fractions d'acétate d'éthyle

Les fractions chloroformiques testées (A-U) montrent des zones d'inhibition variant de 6 mm à 30 mm (fig. 11).



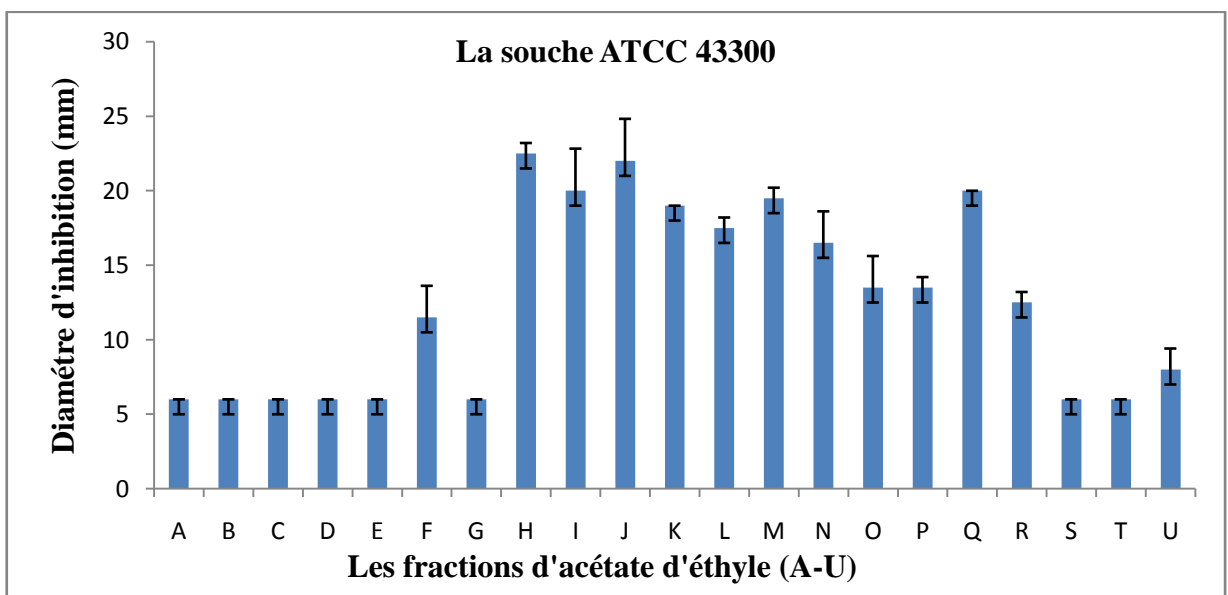
**Fig. 11 :** Image représentant l'activité de différentes fractions d'acétate d'éthyle contre les souches de *S. aureus* testées

Pour la souche S 225 la fraction K donne la meilleure activité avec un diamètre de 23 mm suivi par les fractions J, M, L, R, G, P, I, N, H, O, Q et S avec des diamètres compris entre 20.5, et 13.5 mm (fig. 12).



**Fig. 12 :** Résultats de l'activité antibactérienne des fractions d'acétate d'éthyle contre la souche S225

Les fractions d'acétate d'éthyle testées (A-U) montrent des zones d'inhibitions variant de 6 à 22.5mm. Selon les résultats obtenus nous constatons que la fraction H donne la meilleure activité avec un diamètre de 22.5 mm suivi par les fractions J, I, Q, M, K, L, N, O, P et R (fig.13).



**fig. 13 :** Résultats de l'activité antibactérienne des fractions d'acétate d'éthyle contre la souche ATCC 43300

Pour la souche S56, la fraction K se montre la plus active un diamètre de 30 mm suivi par les fractions L, H, I, M, P, Q, R, N, O, G, J, S et D. Les autres fractions se révèlent moins actives avec des diamètres inférieurs ou égaux à 12mm (fig. 14).

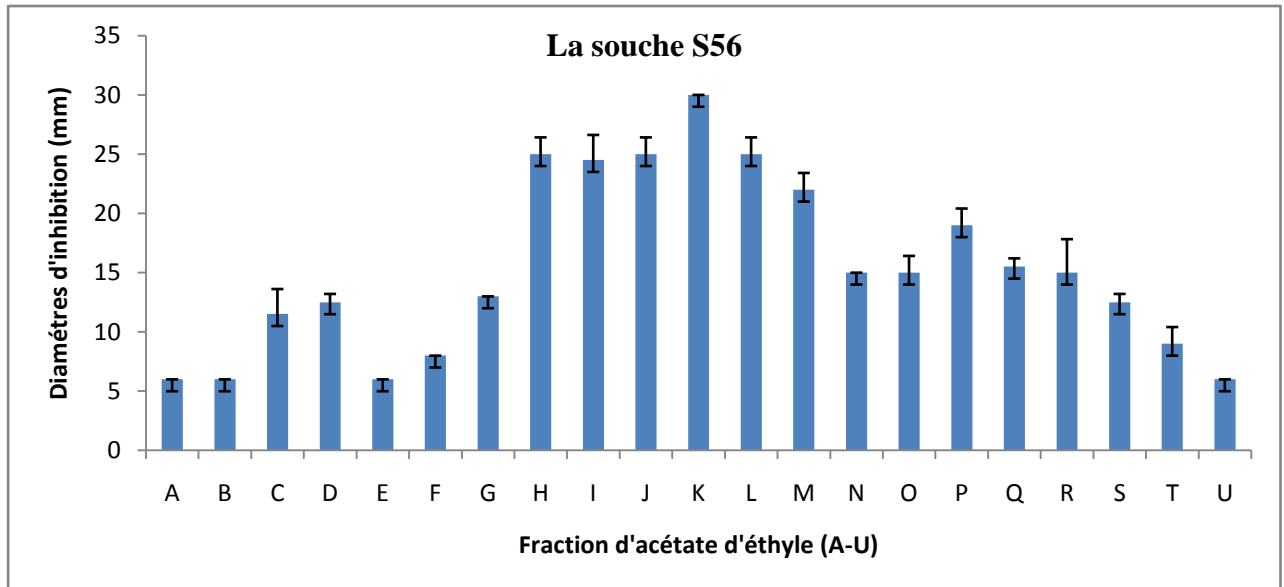


Fig. 14 : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions d'acétate d'éthyle contre la souche S56

Les fractions d'acétate d'éthyle testées (A-U) montrent des zones d'inhibitions variant de 6 à 23.5 mm. La fraction J donne le meilleur effet avec un diamètre de 23.5 mm suivi par les fractions I, P, K, H, M, N, L et Q avec des diamètres de : 20.5, 19, 17.5, 16.5, 15.5, 15.5, 14.5 et 13.5 mm respectivement (fig. 15).

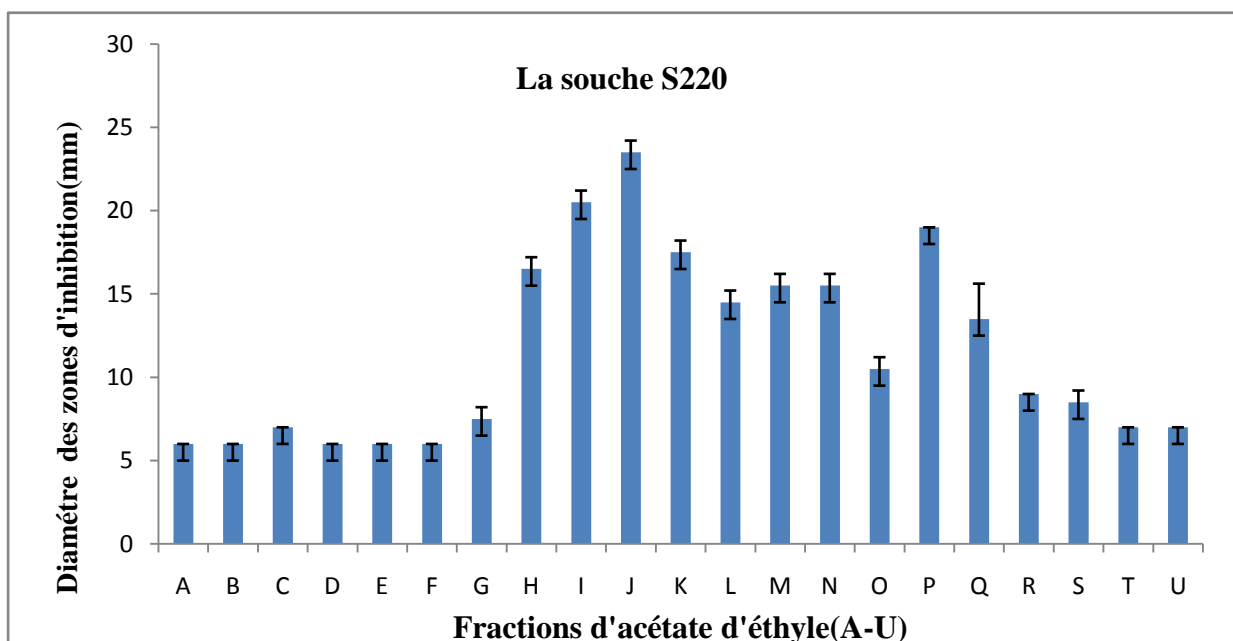


Fig. 15 : Résultats de l'activité antibactérienne des fractions d'acétate d'éthyle contre la souche S220



Ces résultats se rapprochent de ceux de **Kiran et al., (2013)** qui ont trouvé que les extraits d'acétone et de chloroforme obtenus de différents échantillons de l'espèce de Lichen *Evernia prunastri* présentent une activité antimicrobienne contre plusieurs souches (*Staphylococcus*, *Enterococcus* et *Bacillus*) avec des zones d'inhibitions variant de 6 à 23 mm pour les extraits chloroformiques et de 6 à 26 mm pour les extraits d'acétone.

Pour les souches de *Staphylococcus* les zones d'inhibition obtenues varient de 16-17 mm, ce qui est moins important par rapport à nos résultats.

Nos résultats se concordent également avec ceux de **Mitrovic et al., (2011)** qui ont démontré des propriétés antimicrobiennes des extraits méthanolique de Lichen *Evernia prunastri* avec des activités antimicrobiennes de différents degrés selon le groupe microbien ainsi que l'espèce testée. Ces extraits testés ont démontré une bonne activité antimicrobienne contre 2 souches de *Staphylococcus aureus*, 2 *Escherichia coli*, 2 *Entérocooccus faecalis* et 2 *Pseudomonas aeruginosa*. Cette étude a montré particulièrement des effets inhibiteurs contre les bactéries Gram (+) parmi lesquelles *S. aureus*.

Dans un autre travail, **Aslan et al., (2006)** ont prouvé que les extraits d'acétone de lichen testés (*Evernia prunastri*) montrent une forte activité antimicrobienne. Cela signifie que les composants du lichen sont responsables de l'activité antimicrobienne.

Dans un autre travail, **Kahriman et al., (2011)** ont testé l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Evernia* contre des microorganismes Gram-positif et Gram-négatif. L'activité antimicrobienne cette huile essentielle a été observée contre les bactéries testées et compris les souches de *S. aureus*.

**Ranković et al., (2012)** ont observé que l'activité de l'extrait dépend de solvant utilisé dans l'extraction. Ils ont noté que la plus forte activité antimicrobienne est celle obtenue avec des extraits obtenus par du méthanol par rapport aux autres solvants.

D'après **Chahra et al., (2016)**, les extraits testés de lichen *Evernia prunastri* ont montré une activité antimicrobienne relativement faible. L'intensité de l'effet antimicrobien dépendait des espèces de lichen, de la méthode des composés extraits, de sa concentration et de l'organisme testé. L'extrait avec de l'acétone, du chloroforme, de l'éther diéthylique et du méthanol a montré la présence d'une activité antimicrobienne significative contre plusieurs bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

**ETUDE STATISTIQUE (ANOVA/MANOVA : test LSD)**

Les résultats ci-dessous représentent la répartition de l'effet de différentes fractions en groupes homogènes qui sont désignées par les lettres (A, B, C,....).

- **Fractions chloroformiques**

**Test LSD : Effet des différentes fractions chloroformiques contre la souche S 220**

L'analyse statistique a montré que la fraction E8 a donné le meilleur effet suivi de celui de la fraction E9 puis les fractions E10 et E11 et enfin de la fraction E6.

	1	2	3	4	5
E5 220	A				
E4 220	A				
E1 220	A				
E14 220	A				
E13 220	A				
E3 220	A				
E12 220	A				
E6 220		B			
E11 220		B	C		
E10 220			C		
E9 220				D	
E8 220					E

**Test LSD : Effet des différentes fractions chloroformiques contre la souche S 225**

L'analyse statistique a montré que les fractions E8 et E9 ont donné le meilleur effet suivi de celui de la fraction E10.

	1	2	3	4
E12 225	A			
E6 225	A			
E14 225	A			
E13 225	A			
E3 225	A			
E5 225	A			
E1 225	A			
E4 225		B		
E11 225		B		
E10 225			C	
E8 225				D
E9 225				D

**Test LSD : Effet des différentes fractions chloroformiques contre la souche ATCC 43300**

L'analyse statistique a montré que les fractions E8 et E9 ont donné le meilleur effet suivi de celui des fractions E10 et E11.

	1	2	3	4
<b>E14 4330</b>	A			
<b>E1 43300</b>	A			
<b>E4 43300</b>	A			
<b>E13 4330</b>	A			
<b>E3 43300</b>	A			
<b>E5 43300</b>	A			
<b>E6 43300</b>	A	B		
<b>E12 4330</b>		B	C	
<b>E10 4330</b>			C	
<b>E11 4330</b>			C	
<b>E8 43300</b>				D
<b>E9 43300</b>				D

**Test LSD : Effet des différentes fractions chloroformiques contre la souche S 56**

L'analyse statistique a montré que les fractions ayant le meilleur effet sont E9, E10 et E11 suivi de celui de la fraction E6 puis les fractions E8 et E12

	1	2	3	4	5
<b>E1 56</b>	A				
<b>E14 56</b>	A				
<b>E4 56</b>	A	B			
<b>E13 56</b>	A	B			
<b>E5 56</b>	A	B			
<b>E3 56</b>		B	C		
<b>E8 56</b>			C		
<b>E12 56</b>			C		
<b>E6 56</b>				D	
<b>E11 56</b>					E
<b>E9 56</b>					E
<b>E10 56</b>					E

D'après ces analyses, les meilleures fractions sont : E6, E8, E9, E10, E11, et E12.  
L'analyse statistique de l'effet de ces fractions sur les souches testées a montré le suivant :

- L'effet de la fraction E8 contre la souche S 220 est le meilleur ;
- La fraction E9 exerce le même effet sur les 4 souches testées ;
- La fraction E8 présente le même effet contre les souches ATCC 43300 et S 225 ;
- Les autres fractions exercent toutes le même effet.

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>E12 56</b>		A	
<b>E6 220</b>		A	
<b>E10 4330</b>		A	
<b>E8 56</b>		A	
<b>E11 220</b>		A	
<b>E11 4330</b>		A	
<b>E10 225</b>		A	
<b>E10 220</b>		A	
<b>E6 56</b>		A	
<b>E8 225</b>			B
<b>E9 225</b>			B
<b>E8 43300</b>			B
<b>E9 220</b>			B
<b>E11 56</b>			B C
<b>E9 43300</b>			B C
<b>E9 56</b>			B C
<b>E10 56</b>			B C
<b>E8 220</b>			C

2. Fraction d'acétate d'éthyle

**Test LSD : Effet des différentes fractions d'acétate d'éthyle contre la souche S 220**

L'analyse statistique a montré que la fraction J a donné le meilleur effet suivi de celui de la fraction I puis la fraction P.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A220	A											
B220	A											
F220	A											
D220	A											
E220	A											
C220	A	B										
T220	A	B										
U220	A	B										
G220		B	C									
S220			C	D								
R220				D								
O220					E							
Q220						F						
L220						F	G					
M220							G	H				
N220							G	H				
H220								H	I			
K220									I			
P220										J		
I220											K	
J220												L

**Test LSD : Effet des différentes fractions d'acétate d'éthyle contre la souche S 225**

L'analyse statistique a montré que les fractions K, J et M ont donné les meilleurs effets.

	1	2	3	4	5	6	7
A225	A						
B225	A						
C225	A						
D225	A						
E225	A						
F225	A						
U225	A						
T225	A						
S225		B					
O225		B	C				
Q225		B	C				
H225		B	C	D			

I225	C	D	E		
N225	C	D	E		
P225	C	D	E		
G225		D	E	F	
R225			E	F	
L225				F	
M225				F	G
J225				F	G
K225					G

**Test LSD : Effet des différentes fractions d'acétate d'éthyle contre la souche ATCC 43300**

L'analyse statistique a montré que les fractions H, J, I et Q ont donné les meilleurs effets.

	1	2	3	4	5	6	
D43300		A					
A43300		A					
B43300		A					
C43300		A					
E43300		A					
S43300		A					
G43300		A					
T43300		A					
U43300		A					
F43300			B				
R43300			B				
P43300			B				
O43300			B				
N43300				C			
L43300				C	D		
K43300				C	D		
M43300					D	E	
Q43300					D	E	F
I43300					D	E	F
J43300						E	F
H43300							F

**Test LSD : Effet des différentes fractions d'acétate d'éthyle contre la souche S 56**

L'analyse statistique a montré que la fraction K a donné le meilleur effet suivi de ceux des fractions H, J, L, I et M.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>A56</b>	A								
<b>B56</b>	A								
<b>E56</b>	A								
<b>U56</b>	A								
<b>F56</b>	A								
<b>T56</b>	A	B							
<b>C56</b>		B	C						
<b>D56</b>			C	D					
<b>S56</b>			C	D					
<b>G56</b>			C	D	E				
<b>N56</b>				D	E				
<b>O56</b>				D	E				
<b>Q56</b>				D	E				
<b>R56</b>					E	F			
<b>P56</b>						F	G		
<b>M56</b>							G	H	
<b>I56</b>								H	
<b>L56</b>								H	
<b>J56</b>								H	
<b>H56</b>								H	
<b>K56</b>									I

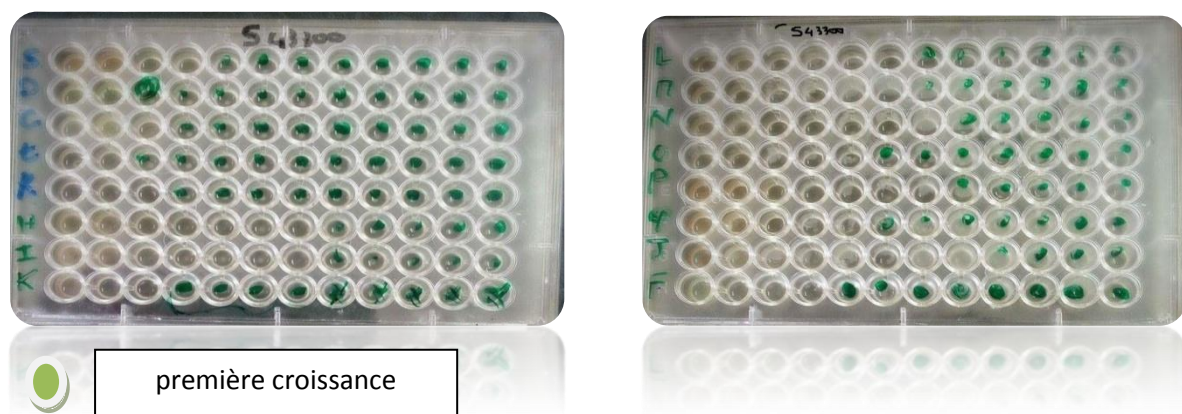
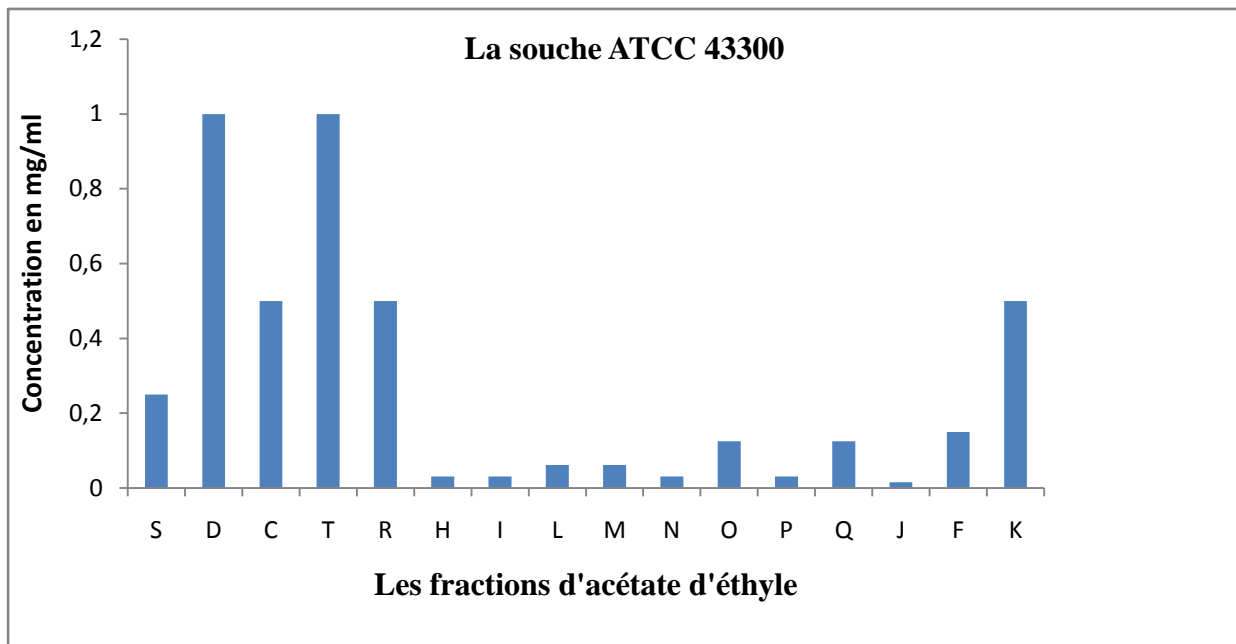
### 1.2. Aromatogramme en milieu liquide (méthode de microdulution)

Les CMI des différentes fractions sont celles obtenues dans les puits de la microplaque avant la première croissance, c.-à-d la ou aucune croissance n'est visible à l'œil nu.

Les résultats de CMI obtenus pour les fractions d'acétate d'éthyle sont représentés dans les figures 16, 17, 18 et 19.

Les Concentrations Minimales Inhibitrices obtenues pour la souche ATCC 43300 en présence des fractions d'acétate d'éthyle varient de 0,0078 à 1 mg/ml. Nous notons bien que certaines fractions montrent les mêmes CMI, c'est le cas des fractions C et R avec une CMI de 0,5mg/ml ; D, T avec une CMI de 1mg/ml ; H, I, N, P avec une CMI de 0,031mg/ml ; L, M avec une CMI de 0,062 mg/ml.

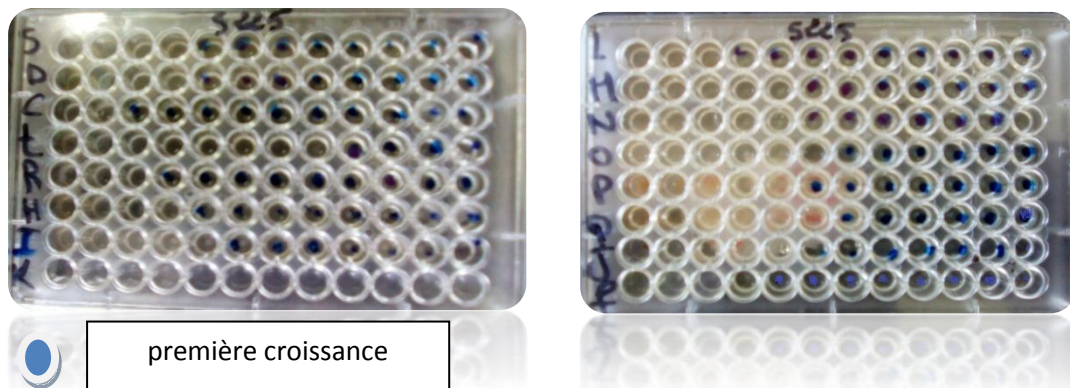
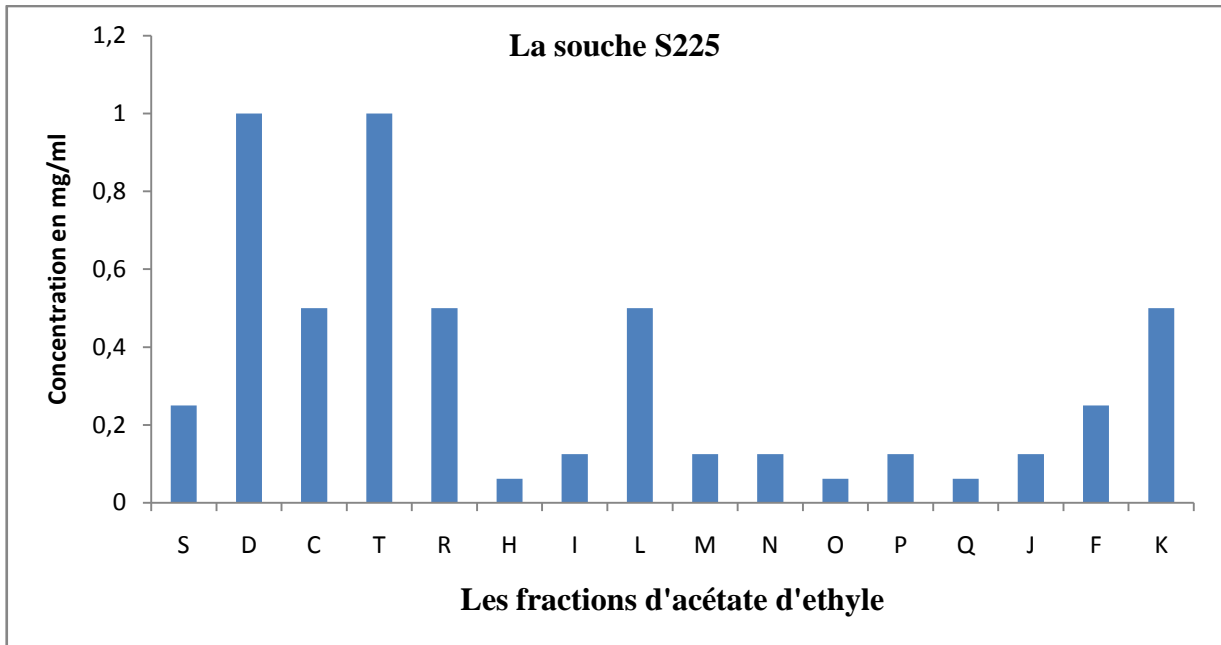
La CMI la plus élevée est obtenue avec les fractions T et D. Tandis que la plus faible est celle obtenue avec la fraction J (fig. 16).



**Fig. 16** : Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche ATCC 43300

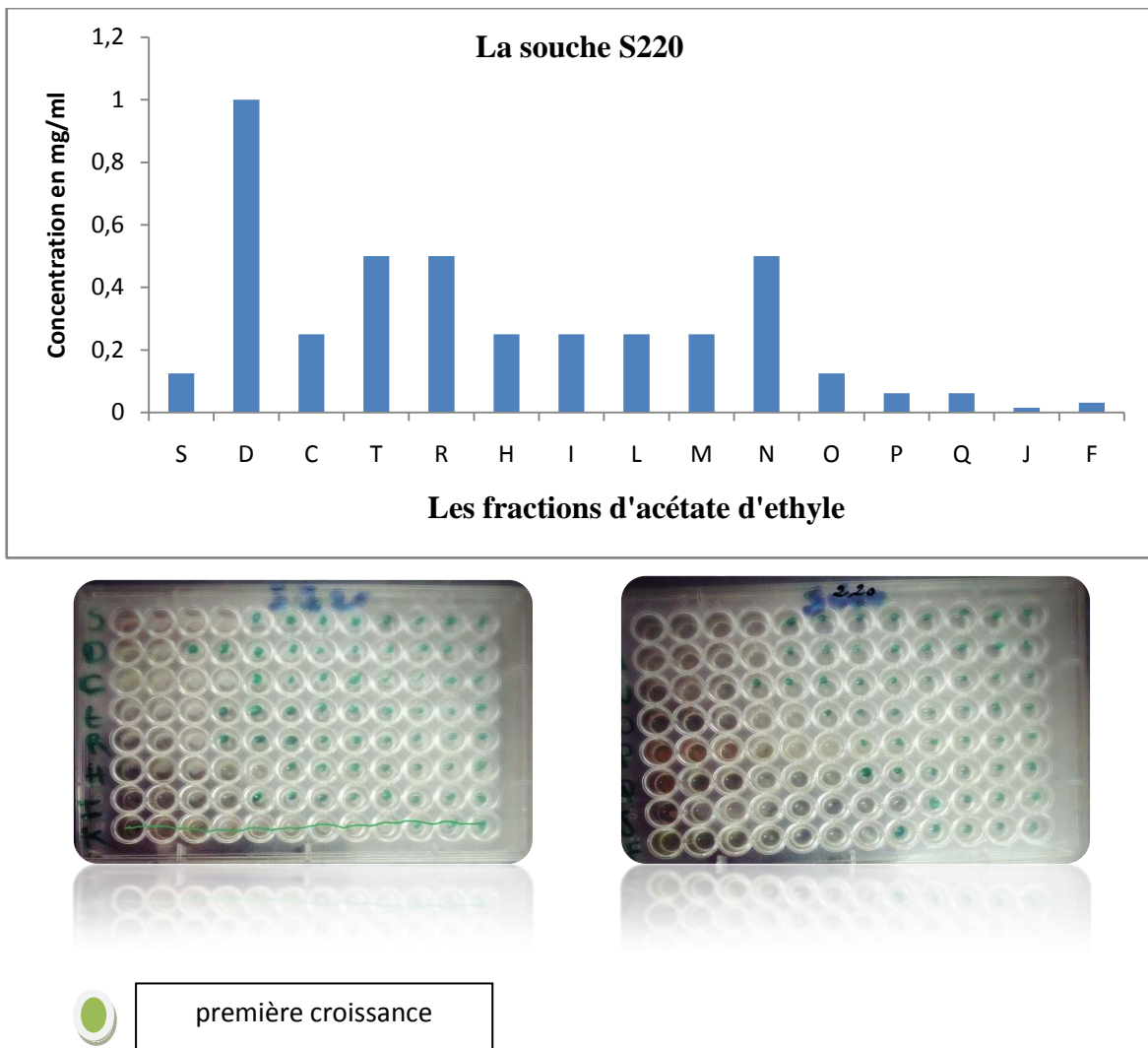


Les Concentrations Minimales Inhibitrices obtenues pour la souche S225 en présence des fractions d'acétate d'éthyle sont : 1 à 0,031 mg /ml. Les plus élevées sont celles obtenues avec les fractions D et T et les plus faibles sont celles des fractions O, Q et H (fig. 17).



**Fig. 17** : Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche S225

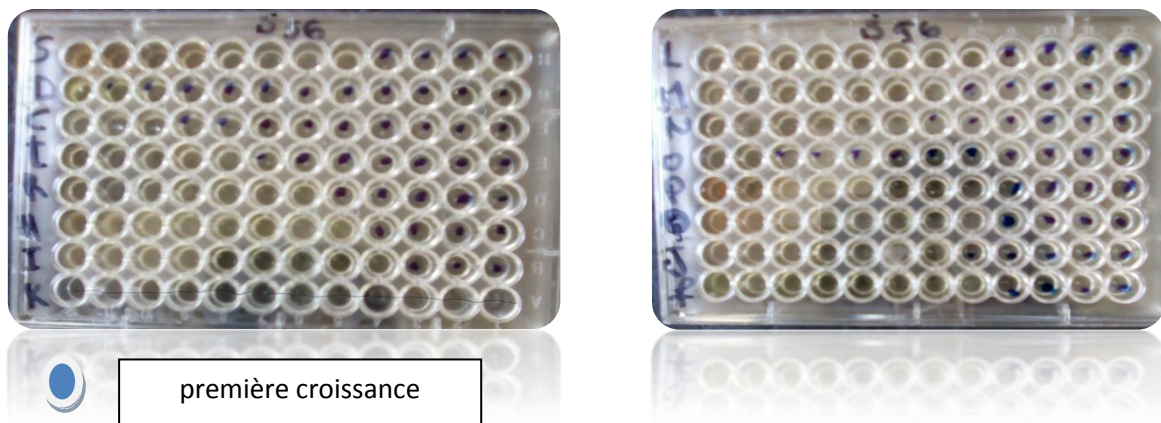
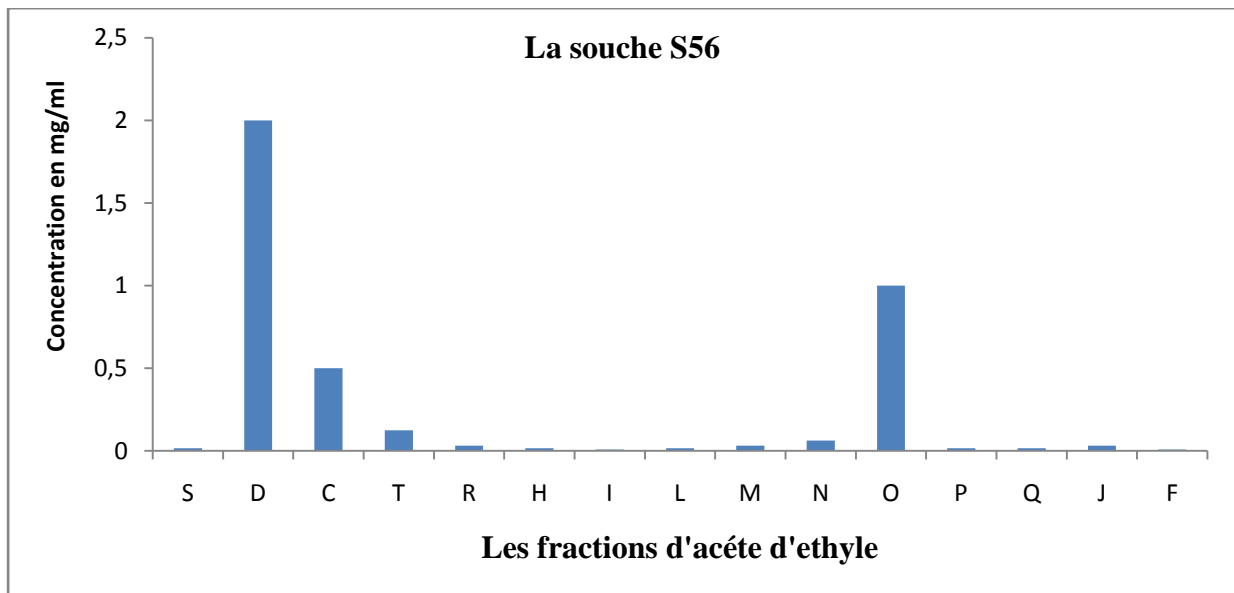
Les Concentrations Minimales Inhibitrices obtenues pour la souche S220 en présence des fractions d'acétate d'éthyle varient 1 à 0,015 mg /ml. La CMI la plus élevée est celle montrée par la fraction D. Tandis que la plus faible est obtenue avec la fraction J (fig. 18).



**Fig. 18** : Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche S220

Les Concentrations Minimales Inhibitrices montrées par la souche S 56 varient de 2 à 0,078 mg/ml. Certaines fractions montrent les mêmes CMI, c'est le cas de R, M et J avec une CMI de 0,031mg/ml ; S, H, L, P et Q avec une CMI de 0,015 mg/ml ; I, F avec une CMI 0,0078 mg/ml.

La CMI la plus élevée est obtenue avec les fractions D. Tandis que la plus faible est obtenue avec les fractions F et I.



**Fig. 19** : Résultat des CMI pour les fractions d'acétate d'éthyle sur la souche S56

D'après les résultats obtenus la fraction D s'avère la plus active et ce sur toutes les souches de *S. aureus* testées.

**Kosanic et al., (2013)** ont trouvé que les extraits d'*E. prunastri* inhibent tous les microorganismes testés, mais à des concentrations un peu élevées. Les CMI obtenues pour l'extrait de ce lichen varient de 6.25 à 25 mg/ml, alors que pour le composé isolé de ce lichen (acide usnique), les CMI varient de 0.5 à 1 mg/ml.

La CMI obtenue pour la souche de *S. aureus* en testant cet extrait est de 12.5 mg/ml, alors que l'acide usnique donne une CMI de 0.5 mg/ml. Ce qui se rapproche de notre résultat.

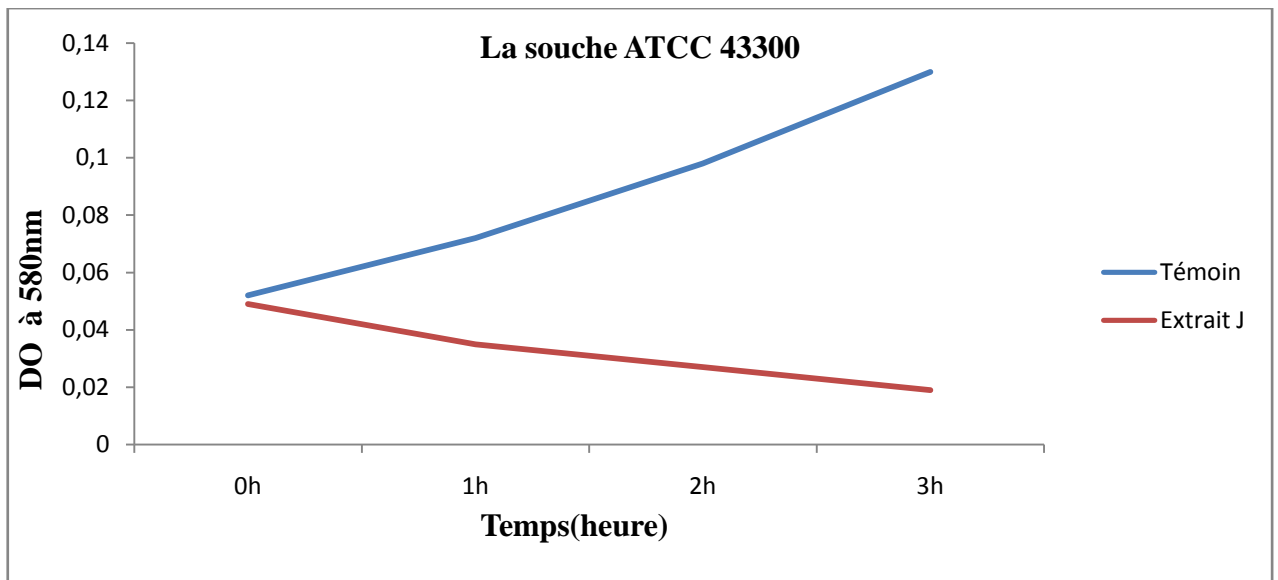
Donc, nous pouvons expliquer l'effet intéressant des fractions testées par leurs richesses en acide usnique et d'autres composés actifs.

Les activités antibactériennes observées sont différentes suivant la méthode utilisée (disques ou aromatoigramme). Pour les extraits testés, l'aromatoigramme ne confirme pas toujours

les résultats obtenus par la méthode en microdulution. L'activité des fractions sur milieu liquide n'est pas toujours proportionnelle à l'activité de ces mêmes fractions sur milieu solide.

## 2. Résultat de la cinétique de croissance en présence des extraits phénoliques des fractions les plus actives

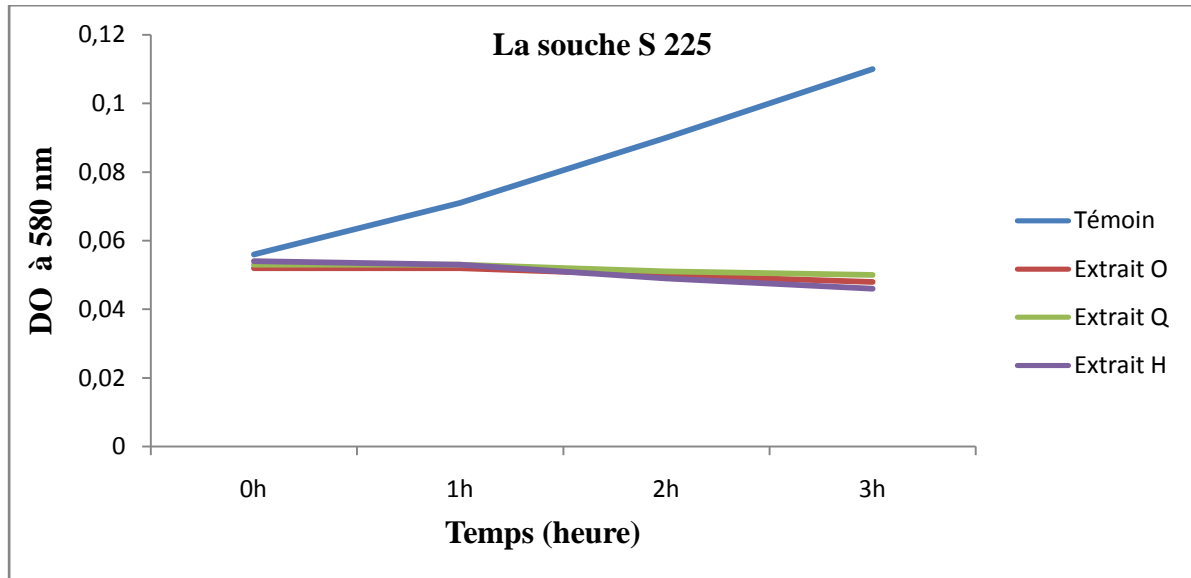
Pour la souche ATCC 43300, la courbe de croissance en absence de tout extrait montre une augmentation de la charge bactérienne de 0,052 à 0,13 et ce au bout de 4h. Cependant, en présence de fraction J la charge bactérienne diminue de 0,049 à 0,019. Ce qui peut s'expliquer un effet bactéricide de cet extrait (fig. 20).



**Fig. 20** : Effet de fraction J sur la cinétique de croissance de la souche ATCC 43300

En absence de tout extrait le nombre de cellule pour la souche S225 augmente de 0,056 pour atteindre une charge bactérienne de 0,11 au bout de 4h.

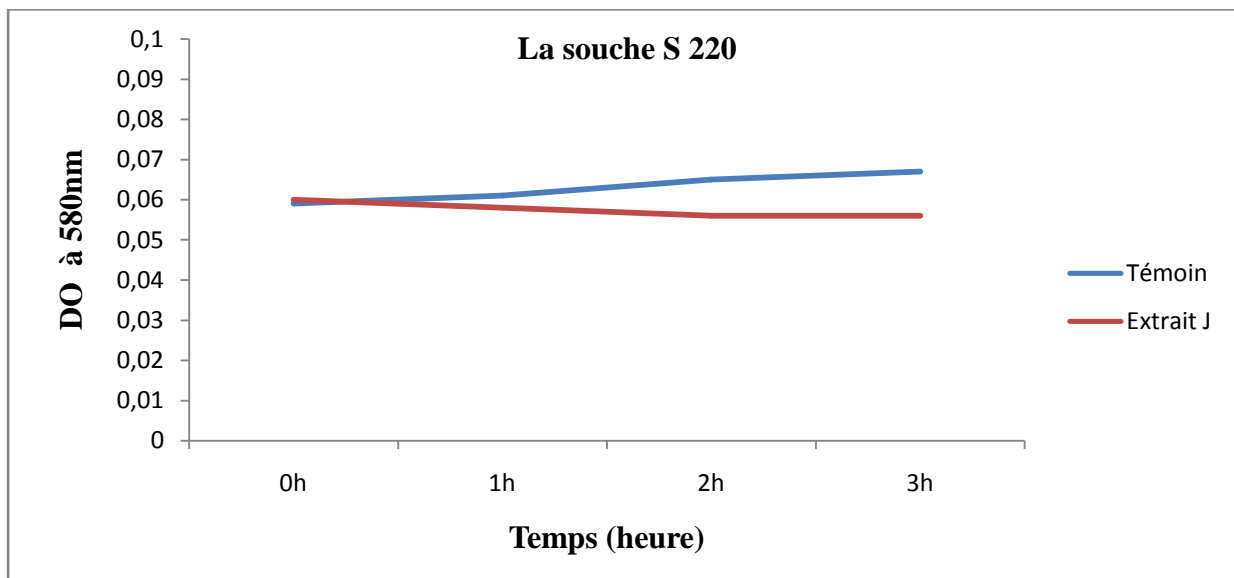
En présence de fraction O et Q la charge bactérienne se stabilise à 0,052 pour l'extrait O et à 0,053 pour l'extrait Q entre T0 et T1 puis diminue jusqu'à atteindre 0,048 et 0,05 respectivement. Cependant, en présence de l'extrait H la charge bactérienne diminue de 0,054 jusqu'à 0,046. Ces trois extraits ayant les mêmes CMI, possède le même effet en milieu liquide (effet bactéricide) et les mêmes effets sur cinétique de croissance la souche testée (fig. 21).



**Fig. 21** : Effet des fractions O, Q et H sur la cinétique de croissance de la souche S225

Pour la souche S220 en absence de tout extrait nous constatons une augmentation de la charge bactérienne de 0,059 à 0,067 et ce au bout de 4h.

En présence de la fraction J la charge bactérienne diminue de 0,06 jusqu'à 0,056 et se stabilise à 0,056 entre T2 et T3. Ce qui s'explique toujours par un effet bactéricide puis un effet bactériostatique (fig. 22).

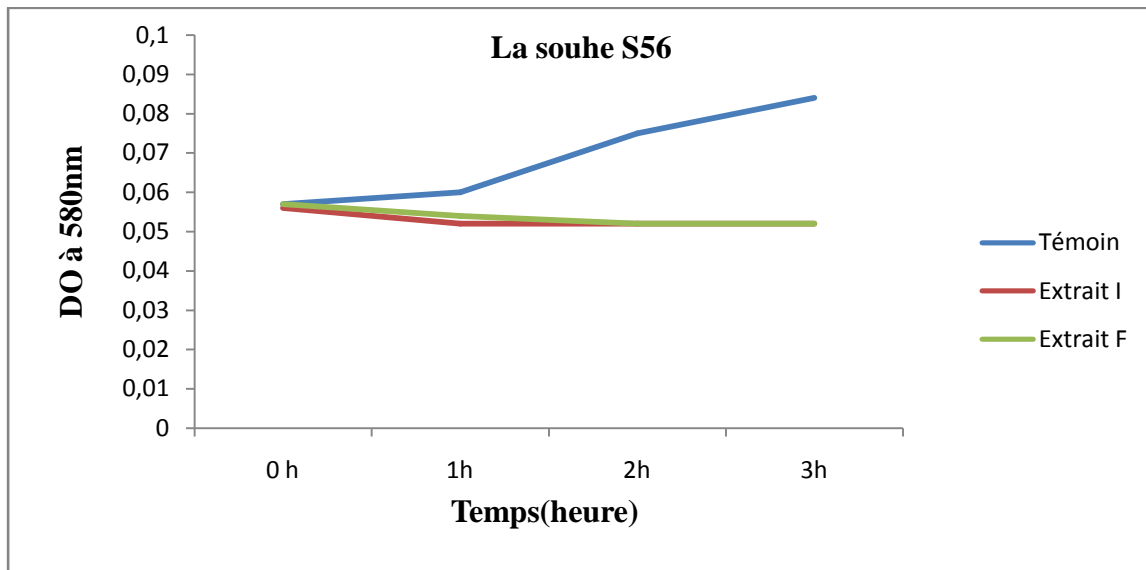


**Fig. 22** : Effet de fraction J sur la cinétique de croissance de la souche S220

Pour la souche S56 en absence de tout extrait, la charge bactérienne augmente de 0,057 à 0,084 et ce au bout de 4h.

En présence de la fraction I la charge bactérienne diminue de 0,056 jusqu'à 0,052 et en présence de fraction F de 0,057 à 0,054 puis la charge bactérienne se stabilise à 0,052 de T1 à

T3 pour l'extrait F et à 0,052 de T2 à T3 pour l'extrait I. Ce qui peut reflète un effet à la fois bactéricide et bactériostatique (fig. 23).



**Fig. 23** : Effet des fractions I et F sur la cinétique de croissance de la souche S56

D'après les résultats obtenus, les tous les extraits testés se révèlent efficace et inhibent la croissance bactérienne en milieu liquide.

Pour la fraction J, la CMI obtenu pour la souche ATCC 43300 est 0.0078mg/ml et S220 égale à 0.015mg/ml. Cependant, l'effet de cette fraction sur la cinétique de croissance des deux souches se montre meilleur sur la souche ATCC 43300 que sur la souche S220.

D'après tous ces résultats le meilleur effet sur la cinétique de croissance des souches testées est celui obtenu pour la fraction J sur la souche ATCC 43300.



***CONCLUSION ET  
PERSPECTIVE***

Les lichens sont utilisés dans le traitement de nombreuses maladies infectieuses, leur utilisation en médecine repose sur le fait qu'ils contiennent des métabolites biologiquement actifs et divers. Les lichens sont moins étudiés mais suscitent un grand intérêt en raison des composés bioactifs qu'ils synthétisent, permettant ainsi de mettre au point de nouvelles voies d'application dans les domaines de la pharmacie, de la cosmétique.

Ce travail préliminaire est une initiation à l'étude des activités biologiques parmi lesquelles l'activité antibactérienne de quelques fractions chloroformiques et d'acétate d'éthyle d'une espèce de lichen *Evernia prunastri* collectée dans de la région de Taher.

La présente étude nous a permis d'évaluer l'activité antibactérienne de 14 fractions chloroformiques (1 – 14) et 21 fractions d'acétate d'éthyle (A-U) d'un extraits ethanologique d'*Evernia prunastri* sur la cinétique de croissance de 4 souches de *Staphylococcus aureus* dont une est résistante à la méticiline (ATCC 43300, S 225, S 220 et S 56).

Ces fractions se sont montrées actives sur les souches de *S. aureus*, pour les souches S 225, ATCC 43300, S 56, S 220 les fractions chloroformiques E9, E9, E10, E8 ont donné le plus grand pouvoir antibactérien avec des zones d'inhibition de  $23,5 \pm 0,7$  mm,  $25 \pm 1,4$  mm,  $28 \pm 0$  et  $30 \pm 0$  mm respectivement. Et les fractions d'acétate d'éthyle K, H, K et J ont montré une bonne activité antibactérienne avec des zones d'inhibition de  $23 \pm 2,82$  mm,  $22,5 \pm 0,7$  mm,  $30 \pm 0$  et  $23,5 \pm 0,7$  respectivement.

En ce qui concerne la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices par la méthode de microdilution en milieu liquide les souches testées ont été inhibées sous l'action des fractions d'acétate d'éthyle avec des concentrations variant de 0,0078 à 2 mg/ml.

L'étude de l'effet des fractions actives (J, O, Q, H, I, F) sur les souches a montré des effets qui peuvent être à la fois bactériostatique et bactériostatique, et la fraction D s'est montrée la plus active sur la cinétique de croissance de *S. aureus*.

Nos résultats peuvent s'expliquer par le profil chimique riche en composés connus par leur pouvoir antibactérien tel l'acide usnique.

Toute fois, les méthodes *in vitro* utilisées pour confirmer l'activité antibactérienne des différentes fractions sont insuffisantes et nécessitent d'autres études supplémentaires plus



avancées telle que l'étude de l'activité antibactérienne *in vivo*. En outre, la caractérisation de la composition chimique par HPLC de ses constituants est nécessaire.

Nous souhaitons également de faire la conception d'une formule médicamenteuse à base lichénique, pour le traitement des maladies infectieuses Humaines et ce dans le but de lutter surtout contre les bactéries manifestant une résistance *vis-à-vis* aux antibiotique.



***LISTES DES REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES***

**A**

- Alpsoy, L., Orhan, F., Nardemir, G., Agar, G., Gulluce, M et Aslan, A . (2015).** Antigenotoxic potencies of a lichen species, *Evernia prunastri*. *Toxicology and Industrial Health*: 31 (2): 153 - 161.
- Alioua, M.A. (2015).** Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. Thèse de Doctorat en Microbiologie Appliquée . Université de BADJI MOKHTAR-ANNABA. P: 221.
- Aslan, A., Gulluce, M., Sokmen, M., Adiguzel, A., Sahin, F et Ozkan, H. (2006).** Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Lichens. *Pharmaceutical Biology*. 44 (4): 247 - 252.
- Arab, K., Bouchenak, O et Yahiaoui, K. (2014).** Etude physico-chimique et évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sarriette des montagnes vis-à-vis des bactéries isolées des infections urinaires. *Revue Agriculture*. 7 : 12 - 19 .
- Avril, J.H., Denis, F., Dabernat, H et Monteil, H. (1992).** Bactériologie clinique ,2ém Edition. Marketing, paris. P 507.
- Aubin, G.G., Corvec, S., Caillon, J., Lepelletier, D et Navas, D. (2015).** Place of linezolid in the treatment of nosocomial pneumonia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Le Pharmacien Hospitalier et Clinicie*. 50 : 114 - 124.

**B**

- Bainchi, V., Elanbassi, S et Duployez, N. (2013).** Bactériologie Virologie. de boeck, bruxelles. P 173.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., et Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*. 46 (2): 446 - 475.
- Bellenfant, S., Vallade, J., Beguinot, J., Sirugue, D et Lemmel, C. (2010).** Les lichens une symbiose exemplaire. *Rev .Sci.Bourgogne-Nature*. 12 : 30 - 45.
- Bousseboua, H. Elément de microbiologie générale. (2002).** Edition de l'université Mentouri, Constantine (Algérie). P 266.
- Bruneton, J. 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4ème édition Technique et documentation ,Lavoisier, paris. P 1269.
- Burkholder, P.R., Evans, A.W., Mcveigh, I et Thornton, H.K. (1994).** Antibiotic activity of lichens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 30 (9): 250 - 255.

**C**

- Cavallo, J.D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C et Garrabé, E., 2004.** Bêtalactamines. *EMC-Maladies Infectieuses*. 1 : 129 - 202.

**Chahra, D., Ramdani, M., Lograda, T., Chalard, P et Figueredo, G. (2016).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Evernia prunastri* and *Ramalina farinacea* from Algeria. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*. 4 (5): 35 - 42 .

**Cheynier, V. (2005).** Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American journal of clinical nutrition*. 81 (1): 223 - 229.

**Clravilie, L., Hervieu, F et Letodé, O. (2001).** Gène de Résistance Aux antibiotique et plant transgéniques. Etition Quae, paris. P 206.

**Culberson, C.F et Wtinsson, H.D. (1970).** Standardkzed Method For The Identification Of Lichen Products. *Journal Of Cromatography*. 46 : 85 - 93.

#### D

**Dia, ML., Diongue, K.KA,R., Sonko, MA., Diagne, R., Sow, AI et Cisse, MF. (2014).** Mécanismes De La Resistance Aux B-Lactamines De Souches De *Staphylococcus aureus* Isolées Au Chu De Dakar (Senegal). *RevGames Sante*. l02 : 9 - 12 .

**Dieu, A. (2015).** Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique. Thèse de Doctorat Chimie des Substances Naturelles. Université de LIMOGES. P 299

**Douibi, C., Messaoud, R., Takia, L., Chalard, P., et Figueredo, G. (2016).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Evernia prunastri* and *Ramalina farinacea* from Algeria. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*. 4 (5): 35 - 42.

**Dumitrescu, O., Dauwalder, O., Gillet, Y., Vandenesch, F., Etienne, J., Lina, G et Tristan, A. (2008).** Les infections communautaires à *Staphylococcus aureus* en pédiatrie :émergence des staphylocoques doré srésistants à la méticilline d'origine communautaire.Infection à Pneumocoque et à Staphylococcus aureus. *Revue francophone des laboratoires*. 407 : 71 - 80.

**Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schkeufer, KH et Stackebrandt, E. ( 2006 ).** The Prokaryotes: Bacteria:Firmicutes, Cyanobacteria. 3em Edition, Springer, newyork. P 1140.

#### E

**El Rhzaoui, G., Divakar, P.K., Crespo, A et Tahiri, H. (2015).** Boimonitoring of air pollutants by using lichens (*Everniaprunastri*) in areas between Kenitra and Mohammedia cities in Morocco. *Lazaroa*. 36 : 21 - 30.

#### F

**Fontanay, S., Mougnot, M.E et Duval, R. (2015).** Evaluation of antibacterial properties of essential oils and/or of their major components. *Hegel*. 5 (2): 109 - 118.

#### G

**Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A et Rasooli, I. (2007).** Chemical and biological characteristics of Cuminumcyminum and Rosmarinus officinalis essential oils. *Food chemistry*. 102 (3): 898 - 904.

**Gordon, N et Wareham, D.W. (2010).** Multidrug resistant : mechanisms of virulence and resistance. *International Journal Of Antimicrobial Agents*. 35 (3): 1 - 42.

**Georgé, S., Brat, P., Alter, P., et Amiot, M.J. (2005).** Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and food chemistry*. 53 (5): 1370 - 1373.

**Gordon ,R.J et Lowy. F.D. (2008).** Pathogenesis Of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Clinical infectious Diseases*. 46 (15): 350 - 359.

**Grosjean, J., Clavé, D., Archambaud, M et Pasquier, C. (2011).** Bactériologie et Virologie pratique. 2éme Edition.Deboeck, bruxelles. P 285 .

### J

**Joulain, D et Tabacchi, R. (2009).** Lichen extracts as raw materials in perfumery. *Published in Flavour and Fragrance Journal*. 24 (2): 49 - 61.

### H

**Haddouchi, F., Lazouni, H.A., Meziane, A et Benmansour, A. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii Boiss et Reut.* *Afrique Science*. 5 (2): 246 - 259 .

**Hammoudi, R., Mahammed, M.H., Ramdane, F et Abed, A. K. (2012).** Activité Antibactérienne des extraits Phénoliques de la plante *Teucrium polium geyrii*. *Algerian journal of arid environment "ajae"*. 2 (1): 49 - 55.

### K

**Kahrman, U., Yazici, k., Arslan, T., Karaoglu, S.L et Yayli, N. (2011).** Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from *Evernia prunastri* (L.) Ach. and *Evernia divaricata* (L.) Ach(lechen). *Asian Journal of Chemistry*. 23 ( 5 ): 1937 - 1939.

**Karabulut, G et Ozturk, A.S. (2015).** Antifungal Activity Of *Evernia Prunastri*, *Parmelia Sulcata*,*Pseudevernia Furfuracea* Var. *Furfuracea*. *Pak. J. Bot.* 47 (4): 1575 - 1579.

**Kabran, G.R., Mamyrbekova-Bekro, J.A., Pirat, J.L., Bekro, Y.A., Sommerer, N., Verbaere, A et Meudec, E. (2014).** Identification of phenolic compounds fromtwo plants of ivorianpharmacopeia. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*. 38 : 57 - 63.

**KarithikaiDevi, G., Anantharaman, P., Kathiresan, K et Balasuramanian, T. (2011).** Antimicrobial activities of lichen *Roccellabelangeriana* (Awasthi) from mangroves of Mannar. *Journal of Géο-Marine Sciences*. 40 (3): 449 - 453.

**Kiran, F., Yildiz, A et Osmanağaoğlu, Ö. (2013).** Bazi Liken Örneklerinin Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 43 (3): 97 - 103.

**Kokubun, T., Shiu, W.K.P et Gibbons, S. (2007).** Inhibitory activities of lichen-derived compounds against methicillin-and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *PlantaMedica*. 73 (2): 176 - 179.

**Kosanic, M et Rankovic, B., Stanojkovic, T., Vasiljevic, P et Manojlovic, N. (2014)** Biological Activities and Chemical Composition of Lichens from Serbia. *EXCLI Journal*. 13 : 1226 - 1238.

**Kosanic, M., Manojlovic, N., Jankovic, S., Stanojkovic, T et Rankovic, B. (2013).** *Evernia prunastri* and *Pseudoevernia furfuraceae* lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. *Food and Chemical Toxicology*. 53 : 112 - 118.

#### Ł

**Lackovicova, A., Guttova, A., Bakor, M., Pisut, P et Pisut, I. (2013).** Response of *Evernia prunastri* to urban environmental conditions in Central Europe after the decrease of air pollution. *The Lichenologist*. 45 (01): 89 - 100.

**Leclere, H., Gaillard, G.L et Simont, M. (1995).** Microniologie générale :la bactérie et le monde bactérien. doinédateur, paris. P 504.

**Lodise, T.P et McKinnon, P.S. (2007).** Burden of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: focus on clinical and economic outcomes. *Pharmacotherapy* 27 : 100 - 112.

**Loppi, S et Frati, L. (2006).** Lichen diversity and lichen transplants as monitors of air pollution in a rural area of central Italy. *Environmental Monitoring and Assessment*. 114 : 36 - 375.

**Lucet, J.C., Chevret, S., Durand.Zaleski, I., Chastang, C et Régnier, B. (2003).** Prevalence and risk factors for carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at admission to the intensive care unit: results of a multicenter study. *Archives of Internal Medicine*. 163 (2): 181 - 188.

#### M

**Mahboubi, M et Bidgoli, F.G. (2010).** Antistaphylococcal activity of *Zataria multiflora* essential oil and its synergy with vancomycin. *Phytomedicine*. 17 (7): 548 - 550.

**Mamadou, R.S., Moussa, I., Sessou, P., Yehouenou, B., Agbangnan, P., Illagouma, A.T., Abdoulaye, A., Sohounhloué, D et Ikhiri, K. (2014).** Etude phytochimique, activités

antiradicalaire, antibactérienne et antifongique d'extraits de *Sebastiania chamaelea* (L.) Müll.Arg. *Ouest-Afr.Chim.* 37 : 10 - 17.

**Margat, E. (2012).** Use of molecular tests for rapid detection of bacteremia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal des Anti-infectieux.* 15 : 9 - 14 .

**Maslac, A., Maslac, M et Tkalec, M. (2016).** The impact of cadmium on photosynthetic performance and secondary metabolites in the lichens *Parmelia sulcata*, *Flavoparmelia caperata* and *Evernia prunastri*. *Acta Bot. Croat.* 75 (2): 186 – 193.

**Mermin, D., Védie, A.L., Jullie, M.L., Fauconneau, A., Beylot-Barry, M et Pham-Ledard, A. (2016).** Cutaneous granular bacteriosis occurring in *Staphylococcus aureus* septicaemia. In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie.* 144 ( 4): 275 - 278.

**Millanes, A.M., Fontaniella, B., Legaz, M.E et Vicente, C. (2003).** Histochemical detection of an haematommoyl alcohol dehydrogenase in the lichen *Evernia prunastri*. *Plant Physiology and Biochemistry.* 41 (9): 786 - 791.

**Mitrovic, T., Stamenkovic, V., Tomic, S., Stankovic, M., Radojevic, I., Stefanovic, O., Comic, L., Curcic, M et Markovic, S. (2011).** Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Five Lichen Species . *International Journal Of Molecular Sciences.* 12 : 5428 - 5448.

**Monnet, D. L et Frimodt-Moller, N. (2001).** Antimicrobial-drug use and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging infectious diseases.* 7(1): 161 - 163.

**Muller, A.A., Mauny, F., Bertin, M., Cornette, C., Lopez-Lozano. J.M., Viel, J.F et Bertrand, X. (2003).** Relationship between spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and antimicrobial use in a French university hospital. *Clinical infectious diseases.* 36 (8): 971 - 978.

**Munzi, S., Pisani, T., Renzi, M Et Loppi, S. (2013).** Effect of nitrogen supply on the C/N balance in the lichen *Evernia prunastri* (L.) Ach. *Turkish Journal of Biology.* 37 : 165 - 170.

## N

**Nauciel, C et Vildé, J.L. (2005).** Bactériologie médicale .2ème Edition, Masson, paris. P 257.

**Nhan, T.X., Gillet, Y et Vandenesch, F. (2012).** Diagnostic et traitements des infections toxiques à *Staphylococcus aureus*. *Journal des Anti-infectieux.* 14 : 117 - 126 .

**Nour, M., Mastouri, M., Nejma, M.B. (2005).** Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*: Emergence and Molecular Basis. *Pathologie Biologie.* 53 : 334 - 340

## O

**Owona, D., Woestyn, S., Olive, N., Gigi, J et Delmée, M. (2002).** Évaluation de méthodes

phénotypiques de détection de la résistance hétérogène de *Staphylococcus aureus* à la méticilline. *Immuno-analyse et Biologie spécialisée*. 17 (2): 113 -1 17.

**P**

**Pavlovic, I., Petrovic, S., Radenkovic, M., Milenkovic, M., Couladis, M., Brankovic, S., Drobac, P.M et Niketic, M. (2012).** Composition, antimicrobial, antiradical and spasmolytic activity of *Ferula heuffelii* Griseb. ex Heuffel (Apiaceae) essential oil. *Food chemistry*.

130 (2): 310 - 315.

**Podterob, A.P. (2008).** Chemical composition of lichens and their medical applications. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 42 (10): 582 - 588.

**Q**

**Quilhot, W., Hidalgo, M. E., Flores, E., Fernandez, E., et Pena, W. (1992).** Possibilités d'utilisation de substances lichéniques comme protecteurs solaires. *Substances naturelles d'origine végétale*. 135 - 141.

**Quincampoix, J.C., et Mainardi, J.L. (2001).** Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation*. 10 (3): 267 - 275.

**R**

**Ramaut, J.L. (1965).** Réflexions sur la valeur chimiotaxonomique des substances lichéniques à basses concentrations: le cas de l'acide usnique chez *everniaprunastri* (L.) ACH. *Phytochemistry*. (4) : 199 - 202.

**Rankovic, B., Kosanic, M., Stanojkovic, T., Vasiljevic, P., et Manojlovic, N. (2012).** Biological activities of *Toninia candida* and *Usneabarbata* together with their norstictic acid and usnic acid constituents. *International journal of molecular sciences*. 13 (11): 14707 - 14722.

**Rasooli, I., et Mirmostafa, S.A. (2003).** Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51 (8): 2200 - 2205.

**Rosato, A., Piarulli, M., Corbo, F., Muraglia, M., Carone, A., Vitali, M.E., et Vitali, C. (2010).** *In vitro* synergistic action of certain combinations of gentamicin and essential oils. *Current medicinal chemistry*. 17 (28): 3289 - 3295.

**Ruef, C. (1995).** Nosocomial transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible role environmental contamination. *éd med microbial let*. 4 : 189 - 196.

**Rybak, M.J et LaPlante, K.L. (2005).** Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmacotherapy*. 25 : 74 - 85.



*S*

**Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A et HadeF, Y. (2015).** Chemical composition and antibacterial activity of the needles essential oil of *Pinus halepensis* Mill. from north east of Algeria. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*. 30 (1): 33-39.

**Scanvic, A., Denic, L., Gaillon, S., Giry, P., AndreMont.A et Lucet, J. C. (2001).** Duration of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after hospital discharge and risk factors for prolonged carriage. *Clinical Infectious Diseases*. 32 (10): 1393 - 1398.

**Seal, J.B., Moreira, B., Bethel, C.D et Daum, R.S. (2003).** Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* at the University of Chicago Hospitals: a 15-year longitudinal assessment in a large university-based hospital. *Infection Control et Hospital Epidemiology*. 24 (06): 403 - 408.

**Solak, S. (2016).** Fatihormanlarının (Şişli, İstanbul) likenleri (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü). P 74.

**Sutra, L., Federighi, M et Jauve, J-L. (1998).** Manuel de bacteriologie alimentaire. Edition :polytechnica, paris. P 307.

*T*

**Tremblay, C. (2008).** Mise à jour du traitement des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. *Pharmactuel*. 41 (5): 284 - 295.

*V*

**Vardar-Unlu, G., Candan, F., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, M., Donmez, E et Tepe, B. (2003).** Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51 (1): 63 - 67.

**Vincenot, F., Saleh, M et Prévosta, G. (2008).** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires*. 407. 61- 69.

*W*

**Williams, V. R., Callery, S., Vearncombe, M et Simor, A. E. (2017).** Acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in contacts of patients newly identified as colonized or infected with MRSA in the immediate postexposure and postdischarge periods. *American journal of infection control*. 45 (3): 295 - 297.

*Y*

**Yoshikawa, K., Kokudo, N., Tanaka, M., Nakano, T., Shibata, H., Aragaki, N., Higuchi, T et Hashimoto, T. (2008).** Novel Abietane Diterpenoids and Aromatic Compounds from

Cladoniarangiferinaand Their Antimicrobial Activity against Antibiotics Resistant Bacteria.  
*Chemical and Pharmaceutical Bulletin.* 56 (1): 89 - 92.

**Z**

**Zambare, V.P et Christopher, L.P. (2012).** Biopharmaceutical potential of lichens.  
*Pharmaceutical Biology.* 50 (6): 778 - 798.

*ANNEXE*

## Annexe I

1) Résultat de l'Effet de la fraction d'acétate d'éthyle **I** et **F** sur la cinétique de croissance de S 56

	DO à 580 nm		
Temps	Témoin	Extrait I	Extrait F
0h	0.057	0.056	0.057
1h	0.06	0.052	0.054
2h	0.075	0.052	0.052
3h	0.084	0.052	0.052

2) Résultat de l'Effet de la fraction d'acétate d'éthyle **J** sur la cinétique de croissance de S 43300

	DO à 580 nm	
Temps (heure)	Témoin	Extrait J
0h	0.052	0.049
1h	0.072	0.035
2h	0.098	0.027
3h	0.13	0.019

3) Résultat de l'Effet de la fraction d'acétate d'éthyle **J** sur la cinétique de croissance de S 220

DO à 580 nm		
Temps (heure)	Témoin	Extrait J
0h	0.059	0.059
1h	0.061	0.058
2h	0.065	0.056
3h	0.067	0.056

4) Résultat de l'Effet de la fraction d'acétate d'éthyle **O**, **Q** et **H** sur la cinétique de croissance de S 225

DO à 580 nm				
Temps (heure)	Témoin	Extrait O	Extrait Q	Extrait H
0h	0.056	0.052	0.053	0.054
1h	0.071	0.052	0.053	0.053
2h	0.09	0.050	0.051	0.049
3h	0.11	0.048	0.050	0.046

## Annexe II

### 1) Composition de la gélose Mueller-Hinton (pour 1 litre d'eau distillée)

Gélose Muller-Hinton (MH)	
Infusion de viande de bœuf déshydratée	3g/L
Hydrolysate acide de caséine	17.5 g/L
Amidon	1.5 g/L
Agar	1.5 g/L
pH	7.3 ± 0.2
Autoclavage à 120°C pendant 20 min	

### 2) Composition du Bouillon Mueller-Hinton (pour 1 litre d'eau distillée)

Bouillon Muller-Hinton	
Extrait de viande de bœuf	2 g/L
Hydrolysate acide de caséine	17.5 g/L
Amidon soluble	1.5 g/L
pH	7.3 ± 0.2
Autoclavage à 120°C pendant 20 min	

3) Composition de l'eau physiologique (pour 1 litre d'eau distillée)

<b>Diluant</b> (Eau physiologique stérile)	
Chlorure de sodium	9g
Eau distillée	1L
pH	$7.3 \pm 0.2$
Autoclavage à 120°C pendant 20 min	

<p><b>Présenté par</b>  M<sup>lle</sup> CHAIB Rekia  M<sup>lle</sup> BAYOU Fatima</p>	<p><b>Membres de jury</b>  Présidente : M<sup>me</sup> BENHAMADA N.  Examinateur : Dr AIT-MEDDOUR A.  Encadreur : M<sup>me</sup> BEKKA F.</p>
<p><b>Thème : Effet de quelques substances bioactives sur la cinétique de croissance de <i>Staphylococcus aureus</i></b></p>	

### RESUME

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des fractions chloroformiques et d'acétate d'éthyle d'une espèce de lichen *Evernia prunastri* et leur effet sur la cinétique de croissance des souches de *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300, S225, S220, S56). L'aromatogramme en milieu solide a été utilisé pour évaluer l'activité de ces fractions. Toutes les fractions testées ont montré des effets plus ou moins importants sur les quatre souches, les fractions chloroformiques E9, E10 et E8 et les fractions d'acétate d'éthyle K, H et J s'avèrent les plus efficaces avec une activité plus prononcée. La détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices a été effectuée par la méthode de microdilution en milieu liquide, les résultats obtenus allant de 0.0078mg/ml à 2mg/ml. L'étude de l'effet des fractions actives (J, O, Q, H, I, F) sur la cinétique de croissance des souches testées a montré des effets qui peuvent être à la fois bactéricide et bactériostatique.

**Mots clés:** Activité antibactérienne, substances bioactives, *Evernia prunastri*, *S. aureus*, aromatoigramme, CMI, cinétique de croissance.

### ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the antibacterial activity of chloroformic fractions and ethyl acetate from *Evernia prunastri* lichen species and their effect on the growth kinetics of *Staphylococcus aureus* strains (ATCC 43300, S225, S220, S56). The plate-medium aromatogram was used to evaluate the activity of these fractions. All the fractions tested showed more or less important effects against the four strains, the chloroformic fractions E9, E10 and E8 and the ethyl acetate fractions K, H and J proved to be the most effective with more pronounced activity. The determination of the Minimum Inhibitory Concentrations was carried out by the microdilution method in liquid medium; the results obtained ranging from 0.0078 mg / ml to 2 mg / ml. The study of the effect of the active fractions (J, O, Q, H, I, F) on the growth kinetics of the tested strains shows effects which can be both bacteriostatic and bactericid.

**Key words:** Antibacterial activity, bioactives substances, *Evernia prunastri*, *S. aureus*, aromatoigram, MIC, growth kinetics.

### ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لأجزاء الكلوروفورمية و خلاص الإيثيل المستخلصة من نوع من الأشنة *Evernia prunastri* وتأثيرها على حركية نمو سلالات المكورات العنقودية الذهبية (ATCC 43300، S 225، S 220، S 56). تم استخدام تقنية الأروماتوغرام في الوسط الصلب لتقييم نشاط هذه الأجزاء وأظهرت جميع الأجزاء المختبرة تأثيرات مختلفة الأهمية على أربع سلالات للمكورات العنقودية الذهبية واطهر كل من الأجزاء الكلوروفورمي E9 و E10 و E8 وأجزاء خلاص الإيثيل K و H و J تأثير أكثر فعالية مع وجود نشاط أكثر وضوحا. لقد تم أيضا إجراء تحديد التركيزات المثبطة ذات الحد الأدنى من خلال طريقة الخفيفات في الوسط السائل، والنتائج التي تم الحصول عليها تتراوح بين 0.0078 ملغ/مل و 2 ملغ/مل. أظهرت دراسة تأثير الأجزاء الأكثر نشاطا (J، O، Q، H، I، F) وجود تأثير مهم على حركية نمو السلالات المختبرة و التي يمكن أن تكون لها فعالية مبيدة أو مثبطة للبكتيريا.

**الكلمات المفتاحية:** النشاط المضاد للبكتيريا، المواد البيولوجية النشطة، *Evernia prunastri*، المكورات العنقودية الذهبية، أروماتوغرام، التركيز المثبط الأدنى، حركية النمو